



الوراثة الطبية
Medical Genetics

تأليف
نخبة من الأساتذة
في كليات الطب

وزارة التعليم العالي

١٤٣٧ - ١٤٣٨ هـ
٢٠١٧ - ٢٠١٨ م


Taken By Rami✌

علم الوراثة

Medical Genetics

الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي



علم الوراثة
Medical Genetics

لجنة التأليف

الدكتور: مروان الحلبي
الدكتور: مجد الجمالي
الدكتور: المعتصم بالله زيتون
الدكتور: بسام الكسيبي
الدكتورة: روميا حسون
الدكتور: عامر دباغ

التدقيق العلمي

الدكتور: عصام قاسم
الدكتورة: شادن حداد

التدقيق اللغوي

الدكتور: محمد قاسم

الفهرس

مدخل إلى علم الوراثة الطبي

Introduction To Medical Genetics

المحتويات Contents

A. فهم الأمراض البشرية
B. الأمراض الجينية البشرية
C. الوراثة البشرية ما بين عامي 1900 و1957
D. تحسين النسل وسوء فهم الوراثة
E. دراسة الجينات على مستوى جزيئي
F. مصدر للمعلومات حول الاعتلالات الوراثية لدى الإنسان على الشابكة
G. التطبيقات السريرية لعلم الوراثة الطبية
H. التقييم والاستنصاح الوراثي
I. التشخيص قبل الولادة
J. العلاج والوقاية من الأمراض الوراثية
K. الخلاصة

يقصد بتعبير الوراثة الطبية العلم الذي يدرس التنوعات الحيوية عند الأفراد التي تتعلق بالصحة والمرض، وأنتقال الخلال من الآباء إلى الأبناء. وبالرغم من أن معرفة اختلاف البشر بعضهم عن بعض موغلة في القدم، وكذلك معرفة التشابه الذي يحدث بين الآباء وذريتهم، بجانب بعض الأمراض التي تشاهد بكثرة في التسلسل العائلي. لم يكشف النقاب عن الأساس العلمي لكل هذه الملاحظات إلا منذ قرن ونيف فقط. بل إن الاستخدامات السريرية لتلك المعارف لم تستغل إلا منذ وقتٍ لا يتجاوز ثلاثة عقود مضت فقط.

A. فهم الأمراض البشرية (Understanding Human Diseases)

يمكن للإنسان وحده من بين كل الكائنات الحية التعلم والكتابة والقراءة والفهم. لقد مكنتنا قدرتنا على الملاحظة والتفكير والتحليل والتذكر ونقل المعلومات التي اكتسبناها من فرد لآخر ومن جيل للذي يليه من البقاء ومن النجاح والتقدم منذ الأزل حتى الآن.

يعد المرض والموت التحديين الكبيرين اللذين يواجهان الإنسان في صراعه من أجل البقاء، لذا سعى الإنسان وأوجد طرائق عديدة للشفاء من الأمراض وتخفيف المعاناة وإطالة أمد الحياة. لم تكن هذه الطرائق دائماً سهلة المنال والتطبيق بسبب اختلاف مسببات المرض وتنوعها: فيروسات (Viruses)، جراثيم (Bacteria)، فُطْرِيَّات (Fungi)، طُفَيلِيَّات (Parasites)، مواد سامة (Toxic substances)، سوء تغذية (Malnutrition)، خلل وظيفي بيولوجي (Biologically based dysfunctions). وبسبب اختلاف ظروف الحياة، فعندما كان الإنسان يعيش في مستعمرات معزولة إن العصر الحجري (Stone Age) منذ خمسة وعشرين ألف سنة كان العامل المُعْدِي (Infectious agent) يسبب الموت لبعض الأفراد في المستعمرة المعزولة، ولكن لم يكن ليتفشى بين أفراد بقية المستعمرات.

حاول الإنسان معرفة أصل المرض وآليته ودخل في تشعبات كثيرة في محاولته هذه ابتداءً بالأرواح الشريرة (Evil spirits) وغضب الآلهة (Angry Gods) وصولاً إلى تحديد المِكروبات (Microorganisms) كسبب رئيسي للمرض. لقد كان لاعتماد الباحثين الطبيين على التجارب العلمية التي تقبل النجاح والفشل ونشرهم للقصص المرضية الأثر الكبير في الوصول إلى دقة أكبر في التشخيص من قبل الممارسين. وهوما أسس لاحقاً لتطوير معالجات فعالة للأمراض ولتطوير اللقاحات (Vaccines) ولتطبيق التعقيم أثناء العمليات الجراحية واتخاذ التدابير الصحية والوقائية العامة، مما أدى لتقليص الأذى والوفيات بشكل كبير في المجتمعات البشرية.

أضحى من الواضح في نهايات القرن التاسع عشر أنَ الكثير من الأمراض لم يكن سببه العوامل المعدية كما كان مسلماً به. ومع مطلع القرن العشرين يمّم الباحثون وجوههم شطر الأمراض العائلية (Familial diseases) وحالات السرطان (Cancer) والاضطرابات العقلية أوالنفسية (Mental / psychological disorders). تزايد الاهتمام بهذا النوع من الأمراض مع إعادة اكتشاف قوانين ماندل في الوراثة من قبل كل من العلماء: هوغودوفري (Hugo de Vries)، وكارل كورن (Carl Correns)،

وإيريك فون تسيرمارك (Erich von Tschermak). وكان جوان جورج ماندل (Johann Gregor Mendel) قد وضع في عام1865 قوانينه في الوراثة التي تحمل اسمه حتى الآن.

B. الأمراض الجينية البشرية (Human Genetic Disease)

وقف الإنسان طويلاً مفتوناً ومهتماً بمسألة الشكل والتركيب التي تبديها الكائنات الحية والحفاظ عليها من جيل لآخر، وبلغة أقل تعقيداً، عندما يلد الإنسان فإنه يعطي إنساناً وليس كائناً آخر. ولكن إذا ما نظرنا وجدنا أن بني البشر يختلفون بينهم ظاهرياً. وإذا ما أمعنا النظر وجدنا أن كل الكائنات الحية على اختلاف أنواعها تبدي تغيرات ملحوظة ضمن كل نوع أوسلالة على حدة. ما الذي يضمن أو يحدد ثباتية الشكل بالحد الأدنى عبر الأجيال المتعاقبة؟

كيف يختلف أفراد النوع نفسه الواحد عن الآخر؟

لقد بدأ الإنسان بفهم الكثير حول الوراثة ابتداءً من النصف الثاني من القرن العشرين. مع العلم أنه استعمل علم الوراثة منذ ما قبل التاريخ لأغراض عملية كتهجين الحيوانات والنباتات. ومع أن طريقة التهجين لا تتطلب إلماماً بمبادئ الوراثة تتطلب حكمةً وصبراً طويلاً. كما درس الكثيرمن الاعتلالات التي تحدث ضمن العائلة الواحدة مثل حالة (العَنَش) (Polydactyly) من قِبَل السير كينلم ديبي (Sir Kenelm Digby) وبيير لوي موروودوموبيرتي (Pierre Louis Moreau de Maupertuis) ورينيه أنتوان دوريمور (René Antoine Ferchault de Réaumur) في القرنين السابع عشر والثامن عشر. استنتج ديبي أن جزءاً من جوهر (Juice) الفرد يحدد طبيعة المواليد في الجيل الثاني، ولكن لسوء الحظ أهملت أفكاره بشكل كبير حول هذا الموضوع.

أجرى لاحقاً بعض العلماء في نهاية القرن التاسع عشر وبداية القرن العشرين دراسات مماثلة لإثبات الوراثة في اعتلالي عمى الألوان (Defects in color vision) والناعور (Hemophilia).

C. الوراثة البشرية ما بين عامي 1900 و1957 (Human Genetics from 1900 to 1957)

غيرت إعادة اكتشاف قوانين ماندل في الوراثة في العام 1900 من مفهوم دراسة الوراثة لدى الإنسان. وكان ماندل قد أظهر أن صفات معينة في الكائن الحي تتحدد بوحدات وراثة (Units of inheritance) دعيت فيما بعد بالجينات (Genes)، وتنتقل من جيل لآخر بطريقة يمكن حسابها.

اقترح أرشيبالد غارو(Archibald Garrod) في عام 1908 وجود خطأ إنزيمي (Faulty Enzyme) وراء بعض الأمراض الوراثية لدى الإنسان، وصنف هذه المجموعة من الأمراض تحت مسمى: خطأٌ استِقْلابِيٌ خِلْقِيٌ (Inborn errors of metabolism).

وكانت البِيلةُ الكابتونيَّة (Alkaptonuria) الحالة التي استشهد بها غارو عن تلك الأمراض. لا تعد البيلة الكابتونية من الأمراض الخطيرة، على الرغم من أنه يتطور لدى المصابين به نوع من الْتِهاب المفصِل (Arthritis) يدعى: التَمَغُّر (Ochronosis). يتحول بول المصابين بالبيلة الكابتونية إلى أسود بعد فترة وجيزة من طرحه خارج الجسم. أثبت العلماء بعد خمسين سنة من وصف غارو للبيلة الكابتونية أن الإنزيم المعطوب هو: Homogentisic acid oxidase.

لقد كان مفهوم غارو في الاعتلالات الوراثية مهماً لسببين: من جهة لتبيانه الأساس الكيميائي الحيوي للكثير من الأمراض الوراثية لدى الإنسان، ومن جهة أخرى لتحفيزه العلماء على البحث في الطرق الكيميائية الحيوية في الكائن الحي. كما لفت الانتباه إلى إمكانية أن المعلومات الوراثية مسؤولة بطريقة ما عن إنتاج الإنزيمات / البروتينات، وهوما أثبتته الأبحاث بعد عقود من الزمن أن الجين تحدد فعلاً تسلسل الأحماض الأمينية في سلسلة البروتين.

D. تحسين النسل وسوء فهم الوراثة (Eugenics: Genetics Misinterpreted)

عزا أغلبية العلماء والناس معاً خلال الربع الأول من القرن العشرين كل علة / خلة تصيب عائلة ما إلى سبب وراثي وفي كثير من الحالات تم الاستخفاف أو تجاهل معايير / مفاهيم الوراثة المندلية، وغالباً لم تؤخذ العوامل البيئية والاجتماعية في الحسبان.

تسبب البِلاغْرَة (Pellagra) آفات جلدية (Skin lesions) واضطرابات عصبية وعقلية خطيرة (Severe nervous and mental disorders). كان هذا المرض شائعاً في جنوب الولايات المتحدة في بدايات الـ 1900. ظن قسم من الباحثين أن المرض معد، وجادل قسم آخر يعمل في مجال الوراثة أن سببه وراثي بسبب ظهور المرض في بعض المرات لدى الآباء والأبناء. ولكن الباحث السريري جوزيف غولدبيرجيه (Joseph Goldberger) لاحظ في عام 1916 أن البلاغرا ليست ذات منشأ خمجي ولا منشأ وراثي، ولكن بسبب عوز تغذوي (Nutritional deficiency) وهو غياب فيتامين النياسين (Vitamin niacin) في الوجبات الغذائية. ومع ذلك بقيت فكرة أن مرض البلاغرة مرض وراثي متجذرة في الولايات المتحدة، وأنه مرض عضال. لذا لم توص الجهات الرسمية بأخذ النياسين كمتمم غذائي حتى العام 1933.

لقد دلت هذه الحالة أنَ وجود خلة Trait ما في عائلة ما عبر أجيال متتالية ليس بدليل كاف على أن الخلة سببها وراثي. وأنه يتوجب تطبيق معايير أكثر صرامةً قبل أن تعزى الخلة لسبب وراثي، وخاصة لدى دراسة الخلات المعقدة (Complex traits) المتعلقة بالمكونات السلوكية (Behavioral components) مثل الذكاء (Intelligence) والشخصية (Personality).

تفشى بين الناس في مطلع القرن العشرين اعتقاد أن كل صفات الإنسان السلوكية ذات منشأ وراثي، وحتى الكثير من الملامح أوالسلوكيات الاجتماعية والثقافية عدت ذات أساس وراثي: كالتقوى (Piety)

والفقر (Poverty) والنجاح (Success) والاضطرابات العقلية (Mental disorders) والإجرام (Criminality) والذكاء (Intelligence). وبأن هذه الصفات تنتقل ضمن عائلات معينة من جيل لآخر. بناءً على هذا المفهوم المغلوط للوراثة نشأت فكرة أن الحضارة (Civilization)، وترمز الحضارة هنا للأثرياء المنحدرين من أصول أوروبية شمالية (Northern Europeans)، في خطر من انحطاط / تنكس وراثي (Genetic degeneration) بسبب أن الجينات السيئة (Bad genes)، ويقصد بالجينات السيئة أولئك الفقراء أو ذوو الأصول الأخرى ما عدا الأوربية الشمالية، سوف تتفوق عددياً (Outnumber) على الجينات الجيدة (Good genes)، ولمنع هذه المصيبة فقد أسست منظمات هدفت إلى تشجيع الأزواج ذوي الجينات الجيدة على التناسل والتكاثر، وإلى إيجاد السبل الكفيلة بمنع ذوي الجينات السيئة من الإنجاب والتكاثر.

يدعى مبدأ تحسين النسل البشري عن طريق تشجيع زيجات معينة ومنع أخرى بمصطلح تحسين النسل (Eugenics). غدت حركة تحسين النسل (Eugenics movement) في العالم واسعة الانتشار وذات تأثير واضح في صياغة القوانين الفيدرالية الخاصة بالهجرة (Federal immigration laws)، زيادةً على ذلك دفعت هذه الحركة باتجاه إنجاز مشروع قانون في الولايات المتحدة يسمح بموجبه بإجراء تعقيم بأمر قضائي (Court-ordered sterilization) للأشخاص عديمي الأهلية لمنعهم من إنجاب الأطفال. وفي عام 1927 أيدت المحكمة العليا في الولايات المتحدة (United States Supreme Court) بثمانية أصوات مقابل واحد قانون تطبيق التعقيم بأمر قضائي بهدف تحسين النسل، وكانت وجهات نظر القضاة تدور في فلك إعلان القاضي أوليفر ويندل هولمز (Oliver Wendell Holmes) القائل: يكفي ثلاثة أجيال من الحمقى (Three generations of imbeciles are enough). فقدت حركة تحسين النسل مصداقيتها في الأربعينيات من القرن الماضي بعد الأعمال المروعة (Horrendous) للنازيين (Nazis).

أدرك العلماء لاحقاً أن مساهمة الوراثة في صحة الجسم الفيزيائية (Physical health)، وفي الذكاء، وفي الصفات المعنوية والأخلاقية (Moral character) معقدة إلى حد كبير. وأضحى جلياً أن الفرضيات الحيوية الأولية لحركة تحسين النسل كانت مبنيةً على معلومات بلا براهين. وأن الكثير من الصفات الظاهرية (Phynotype) لدى الإنسان ما هي إلا تآزر بين العوامل الوراثية والبيئية.

ساهمت دراسة الوراثة البشرية منذ العام 1950 بشكل ملحوظ في تحديد الأمراض الوراثية والحالات المعقدة ذات الملامح الوراثية. وتطورت الطرائق الرياضية التي مكنت الباحثين من استنباط أنماط من الوراثة، وذلك بعد فحص عدد كبير من الإخوة ضمن الجيل الواحد. وسجلت 500 حالة وراثية معظمها مرضية.

لقد عرف القليل عن العواقب الكيميائية الحيوية لتلك الأمراض، لا بل كانت العلاقة ما بين مرض وراثي ما وجين معطوبة (Defective gene) غامضةً تماماً. ولم تبتكر أي معالجة نوعية للأمراض الوراثية،

ولم تطور حتى طريقة لتشخيص هذه الأمراض. وهكذا بدت دراسة الوراثة البشرية عقيمة في بداياتها، ولم تلح في الأفق طريقة جديدة لسبر أسس الأمراض الوراثية البشرية.

E. دراسة الجينات على المستوى الجزيئي (The Molecularization of Genetics)

أحدث العالمان: جيمس واتسون (James D. Watson) وفرانسيس كريك (Francis H. C. Crick) في العام 1953 ثورةً في كل العلوم الوراثية والبيولوجية، وذلك باكتشافهما البنية الحلزونية الثنائية للحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين (DNA،Deoxyribonucleic acid). وتغيرت إلى الأبد دراسة الأمراض الوراثية البشرية عندما أصبحت هذه الدراسة على المستوى الجزيئي. البيولوجيا الجزيئية (Molecular biology) هي تقاطع لعلوم الوراثة والكيمياء الحيوية هدفها فهم آليات العمليات الحيوية ضمن الخلية على المستوى الجزيئي، أي على مستوى البروتين والـ DNA والحَمْض النَوَوِيّ الرِّيبوزِي (RNA،Ribonucleic acid)، وذلك بغية معرفة الآلية التي تسبب فيها التغيرات في هذه الجزيئات الكبيرة (Macromolecules) تعطيلاً للعمليات الحيوية.

لقد كان فَقْرُ الدَّمِ المِنْجَلِيّ (Sickle cell anemia) المثل الأول الذي بيّن علاقة تغير بنية جزيئة حيوية بظهور مرض وراثي. وجد العالم فيرون انغرام (Vernon Ingram) في العام 1957 باستخدام تقنية البصمة الاستشرابية للبروتين (Protein fingerprinting) وتقنية سَلسَلة (Sequencing) البروتين أن الهيموغلوبين المنجلي (HbS) يختلف عن الهيموغلوبين الطبيعي بحمض أميني واحد في السلسلة بيتا. لقد استبدل الحمض الأميني السادس حمض الغلوتاميك (glutamic acid) في الهيموغلوبين الطبيعي بالحمض الأميني الفالين (Valine) في الهيموغلوبين المنجلي. يسبب هذا الاستبدال تغيراً في خواص الهيموغلوبين وزيادة في لزوجته داخل كريات الدم الحمراء مؤدياً إلى تشويه شكلها.

تمكّن العلماء بعد مضي ربع قرن من تطبيق تقنية سَلسَلة الدنا لتحديد نوع التغيرات التي تحدث على مستوى الجين المسؤولة عن ظهور أمراضٍ وراثية لدى الإنسان. تعد أبحاث تحدي وعزل ووصف الجينات المسببة للأمراض الوراثية المختلفة من الأعمال الشائعة في مجال الوراثة البشرية.

F. مصدر للمعلومات حول الاعتلالات الوراثية لدى الإنسان على الشابكة (OMIM: Online source of information about human genetic disorders)

أسس فيكتور ميكوسيك (Victor McKusick) الباحث في علم الوراثة البشرية في جامعة Hopkins نشرة (Catalog) للاعتلالات البشرية الوراثية البشرية في عام 1966 دون فيها 1487 حالة. يطلق اليوم على هذه النشرة اسم: OMIM، وهواختصار لمجموع الأحرف الأولى من الكلمات التالية:

Online Mendelian Inheritance in Man

كبر فيما بعد المشروع ليضم اليوم أكثر من 15000 حالة، وهي في متناول اليد على الموقع:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query

تتحدد كل حالة مدونة في هذا الموقع برقم سداسي بجانب الرمز OMIM. تمتلك كل حالة اضطراب وراثي بشري مدونة في الـ OMIM مجموعة من المعلومات حول الاعتلال وأساسه الجزيئي ووراثته والملامح والتدابير السريرية هذا الاعتلال. كما تصاحب كل حالة قائمة من المراجع تتيح للباحثين التوغل عميقاً في أدبيات الاعتلال. يوجد في أيامنا هذه الكثير من المواقع على الشابكة المختصة بالاعتلالات الوراثية.

G. التطبيقات السريرية لعلم الوراثة الطبية:

لقد أصبحت الأمراض التي تحددها الوراثة الآن موضوعاً ذا أهمية متزايدة للصحة العامة في المجتمع، بعدما أصبح في الإمكان التحكم في معظم العداوى، وبعد أن أنقذت الرعاية الطبية الحديثة، ووسائل التمريض الجيدة، كثيراً من الأطفال الذين كانت تُحصد في الماضي أرواحهم بعد الولادة بمدة بسيطة. دعت هذه الحالة إلى الحاجة المتزايدة إلى الاستنصاح الوراثية Genetic counselling، وعمل اختبارات التقصي الجيني (Genetic screening)، وذلك للكشف عن حاملي الجينات المصابة، وعن الحمل الذي يشكل خطورة وراثية.

H. التقييم والاستنصاح الوراثي:

بدأ دافنبورت (Davenport) إعطاء بعض النصائح الوراثية في مرحلة مبكرة تصل إلى سنة 1910 في الولايات المتحدة الأمريكية، وأنشئت أول عيادة للمشورة الوراثية في إنجلترا في عام 1946 في شارع غريت أورموند (Great Ormond)، بلندن. واستدعى الإقبال المتزايد من الجمهور، على تنامي عدد مراكز الاستشارات الوراثية.

بجانب التقييم الدقيق للخطورة التي يمكن أن تكتنف العائلة، يحتاج طبيب علم الوراثة أيضا أن يناقش كل خيارات الإنجاب. فقد حدثت تطورات مهمة فيما يخص التشخيص الوراثي قبل التعشيش، مع إتاحة الخيار لإنهاء الحمل. ومن هذا المنطلق ازدادت الحاجة إلى مسالة الاستنصاح الوراثي.

إن التشخيص الوراثي قبل التعشيش أعطى نوعاً من الضمان للزوجين اللذين لديهما خطورة عالية لحدوث اضطرابات وراثية، وسمح لكثير من الأزواج الذين كان يثنيهم الخوف من خطورة إصابة نسلهم باضطرابات وراثية، أن يحصلوا بعد تلك المشورة على أطفال أصحاء.

I. التشخيص قبل الولادة:

لقد تمت محاولة بَزل السلى (Amniocentesis) من أجل التشخيص الوراثي أول مرة في سنة 1966، وكانت أول حالة تكتشف الشذوذ الصبغي في سنة 1969 (متلازمة تثلث الصبغي 21) (Trisomy21)، أما الآن فقد أصبح بزل السلى من أجل الاستقصاءات الصبغية عملاً روتينياً في ممارسة رعاية الأمومة أثناء الحمل، وقد وصلت حالات الشذوذات الصبغية المختلفة التي يمكن الكشف عنها إلى مئتين. بجانب ذلك يفيد بزل السلى أو أخذ عينات من الزغابات المشيمائية (Chorionic Villi) في إمكانية الكشف عن تغيرات كيميائية حيوية في مسار أمراض أخطاء الاستقلاب الوراثية. استعملت تلك الوسائل أول مرة سنة 1968 أثناء الحمل للكشف عن خطورة حدوث متلازمة ليش – نيهان Lesch –Nyhan Syndrome، ومنذ ذلك الوقت، استخدمت تلك الطرق بنجاح للكشف قبل الولادة عن أكثر من 150 مرضاً من أمراض أخطاء الاستقلاب الوراثية.

من ناحية أخرى يمكن استخدام تحليل الدنا لعينات من الجنين للتشخيص قبل الولادة. لقد تم اللجوء إلى هذا المنحى الاستقصائي أول مرة في عام 1976 في حامل كان يشك بخطورة حدوث الثلاسيمية الفا لدى جنينها. ومنذ ذلك الوقت حتى الآن، تستخدم في أكثر من 200 اضطراب مختلف يصيب الجين الفرداني، وفي بعض هذه الاضطرابات مثل التليف الكيسي (Cystic fibrosis)، ومتلازمة الصبغي X

الهش (Fragile X Syndrome)، والحثل العضلي لدوشين (Duchenne muscular dystrophy)، أصبحت هذه الوسيلة هي الطريقة الرئيسية في التشخيص قبل الولادي.

إن الاختبارات التي تشخص الشذوذات الصبغية أو الكيميائية أو تغيرات الدنا (DNA) لا تستطيع أحياناً أن تكشف عن كثير من التشوهات الخلقية الكبيرة. وعندها، قد تكون المقاربة البديلة للتشخيص هي الرؤية المباشرة للجنين. استعمل التصوير بأجهزة فائق الصوت عالي الميز High Resolution ultrasound في هذا الاتجاه. وكان استعماله أول مرة في تشخيص حالة جنين معدوم الدماغ (Anencephaly) سنة 1972، ومنذ ذلك الوقت استعملت هذه الوسيلة في الكشف عن أكثر من 400 نمط مختلف من التشوهات الجنينية.

ل. العلاج والوقاية من الأمراض الوراثية:

تزداد مع مرور الوقت احتمالات المقدرة الفعالة على معالجة الأمراض الوراثية، ففي سنة 1990 تمت أولى المعالجات بوساطة تطبيق العلاج الجيني البشري لاضطراب جيني فرداني مثل نقص إنزيم الأدينوزين دي أميناز Adinosine deaminase deficiency. وتنامت الاهتمامات البحثية في هذا المجال بشكل نشط ومكثف، حتى نهاية عام 1994 كانت الساحة تكتظ بأكثر من 100 بروتوكول بحث تم الموافقة عليها في مجال العلاج الجيني، (60٪ منها يتعلق بعلاج السرطان، 25٪ لعلاج اضطرابات الجين الفرداني، 10٪ لعلاج مرض نقص المناعة المكتسب AIDS).

لا تدرك الغالبية العظمى من الأزواج أن لديهم عوامل خطورة وراثية إلا حينما يرزقون بطفل مصاب. وربما كان هذا هوالحافز على تزايد إجراء عمليات التقصي (Screening). على سبيل المثال، قياس مستوى ألفا فيتوبروتين Alpha Teloprotein ومواد أخرى في مصل الحامل، للكشف عن الحمل الأكثر خطورة لحدوث عيب في القناة العصبية، أو اضطرابات صبغية أخرى. لقد أدخلت عمليات التقصي الوليدي (Neonatal Screening) عام 1961، للكشف عن بيلة الفينيل كيتون (Phenyl – ketonuria)، وحالات مرضية أخرى كثيرة، إذ يتيح التشخيص والعلاج المبكران نمواً وتطوراً سوياً للطفل، وقد يكون من المحتمل في المستقبل أن تتطور عمليات التقصي على مجموع السكان، سواء قبل الولادة، أوبعدها مباشرة، أوحتى قبل الحمل. ربما يقلل هذا التوجه من شيوع أمراض وراثية كثيرة بما يحمله ذلك من منفعة للعائلات، وللمجتمع بشكل عام.

K. الخلاصة

لفهم المبادئ الأساسية للوراثة البشرية ينبغي أولا : إدراك المفاهيم الرئيسية التي تحدد نمط انتقال وحدات المعلومات الوراثية (Genes) من جيل إلى آخر، وهوالعلم الذي أسسه ماندل (Mendel) وخَلَفَه من بعده كثير من العلماء، ويشكل الأساس لدراسة الصفات الموروثة لدى البشر وكائنات حية أخرى تتكاثر بالجنس.

ثانياً: إنه من الأهمية بمكان معرفة كيفية فك المعلومات المشفرة الموجودة في الدنا (DNA) وكيفية إنتاجها للبروتينات، وهوعلم البيولوجيا الجزيئية.

سنعرض في هذا الكتاب مجمل المحاور السابقة، بما يخدم اهتمامات طلبة العلوم الطبية، ويلبي احتياجاتهم الوراثية الطبية، متوخين نقل المعلومات بالقدر الممكن من الدقة والصحة.

والله من وراء القصد.

المؤلفون

الفصل الأول

الوراثة المندلية

Mendelian Inheritance

المحتويات Contents

مكّنت التجارب المصممة جيداً والأفكار النيرة ماندلَ (Mendel) من وضع المبادئ الأساسية في الوراثة. وقد اختار لذلك حديقة تكاثرت فيها البازلاء (Pea). وقام بإجراء التأبير الذاتي (Self-pollination)، ومن ثم منع حدوث تلوث وراثي (Genetic contamination) بين أنسال النباتات (Offspring plants) الذي ينجم عن التلقيح المتبادل (Cross-pollination). كما استطاع ماندل باستخدام التخصيب الذاتي في بعض التجارب خلق تهجينات جينية محددة (Genetically precise crosses) إذ قام بنزع السَدَاة (Stamen)، وهوالعضوالذكري في الزهرة، قبل تشكل حبات طلع (Pollen grains) ثم قام بتأبير / بتَغْفير (Dusting) المِدَقَّة (Pistil) الباقية، وهي الجزء الأنثوي في الزهرة، بحبات طلع من ذُرِّيَّة (Strain) من اختياره.

وتعد دراسة خَلَّة (Trait) مفردة وانتقالها من جيل (Generation) إلى الذي يليه من أحد أهم القرارات التي اتخذها ماندل وقتها. فقد تفحص البذور من ناحية شكلها (Seed shape): مدورة (Round) أو مجعدة (Wrinkled)، ومن ناحية لونها (Seed color): صفراء (Yellow) أم خضراء (Green). كما فحص الجذوع من إذ طولها أوقصرها (Stem height)، ولون الأزهار (Flower color) بيضاء (White) أم أرجوانية (Purple). شكل القرن الحاوي على البذور (Pod shape) منتفخة (Inflated) أو مقعرة (Pinched). لون القرن الحاوي على البذور (Pod color) أخضر أم أصفر. موضع الأزهار (Flower position) في النبتة مِحْوَرِيّ (Axial) أو مِطْراف (Terminal).

استخدم ماندل في تجاربه سلالات (Lines) أو ذراري (Strains) من نباتات قادرة على إعطاء صفة من كل من هذه الصفات التي اختارها للدراسة. فزاوج مثلاً النباتات التي تعطي فقط البذور المدورة مع تلك التي تعطي فقط البذور المجعدة، وتلك التي تعطي فقط البذور الصفراء مع تلك التي تعطي فقط البذور الخضراء، وهكذا دوليك. ثم حول ماندل نتائجه إلى بيانات رقمية وذلك بِعدّ البذور كل حسب صفاتها التي ورثتها من جيل الأباء والأجداد.

لاحظ ماندل بعد قيامه بعد تزاوجات متصالبة مختلفة نماذج من الوراثة تمثل علاقات رياضية متناسقة بسيطة.

1.1. السِيادَة، التنحي، الفصل

(Dominance، Recessiveness، Segregation)

عندما صالب ماندل نباتات تعطي دائماً بذوراً مدورة مع تلك التي تعطي دائماً بذوراً مجعدة حصل في الجيل الأول على نباتات تنتج بذوراً مدورة. ثم ترك نباتات الجيل الأول يزاوج بعضها بعضاً فحصل في الجيل الثاني على نباتات تنتج بذوراً مدورة وأخرى تنتج بذوراً مجعدة، وكانت نسبة البذور المدورة إلى المجعدة 3 إلى 1. وقد لاحظ الشيء نفسه لدى دراسة كل زوجٍ من أزواج الصفات الأخرى.

أدرك ماندل أن الوراثة (Inheritance) هي ظاهرة حيوية ثابتة ولم تعتمد على الصفة التي درست.

لفهم نتائج الدراسات الوراثية لا بد أولاً من وضع رموزٍ وراثيةٍ واضحةٍ للأفراد المشتركين في الدراسة.

- الجيل الوَالِديّ (Parental generation): يُرمَز له بـ P_1.
- يدعى نسل الجيل الوَالِديّ بالجيل البَنَوِيّ الأول (First filial generation): يُرمَز له بـ F_1.
- يدعى النسل الناجم عن تزاوج يكون فيه كلا الأبوين أو أحدهما من الجيل البَنَوِيّ الأول (F_1) بالجيل البَنَوِيّ الثاني (Second filial generation): يُرمَز له بـ F_2.

وجد ماندل لدى مصالبته النباتات التي تعطي البذور المدورة وتلك التي تعطي البذور المجعدة أن صفة المجعدة لا تظهر على البذور إلا في الجيل الثاني دون الأول. وذلك بعد التخصيب ما بين نباتات الجيل الأول (F_1x F_1). وكانت صفة تجعد البذور مطابقة في الجيل الثاني (F_2) لتلك الموجودة في جيل الآباء (P_1).

استنتج ماندل أن العامل المسؤول عن تجعد البذور كان موجوداً في نباتات الجيل الأول، ولكنه لم يؤثر على شكل البذور في هذه النباتات، بل انتقل كوحدة مستقلة إلى نسل الجيل الثاني. كان التفسير الأبسط لتلك التجربة أن نباتات الجيل الأول امتلكت عاملين (جينتين) مسؤولين عن شكل البذور أحدهما مسؤول عن صفة التدوير والآخر عن صفة التجعيد. بناءً على هذا الاستنتاج فإن النباتات الأبوية التي تعطي البذور المدورة يجب أن تملك جينتين كل واحدة منهما كافية لتمنح بذورها صفة التدوير. بشكل مشابه تمتلك النباتات الأبوية التي تعطي البذور المجعدة جينتين مختلفتين عن تلك الجين المسؤولة عن صفة التدوير.

استنتج ماندل أيضاً أن عدد العوامل المحددة لصفة ما تبقى نفسها من جيل للذي يليه، وبحتمية وجود آلية تؤمن استقبال كلٍّ من خلايا البيضة والطلع لعدد مفرد من زوج الجينات (العوامل) من كل أب. وبالرغم من أن ماندل لم يكن لديه درايةٌ بالصبغيات توافق حدسُه حول توزع الجينات من جيل للذي يليه بدقةٍ متناهية مع الانقسام الانتصافي Meiosis.

أدرك ماندل أنه في نباتات الجيل الأول كانت جين وحيدة كافية لظهور صفة التدوير على البذور. ولم يكن للجين المسؤولة عن صفة التجعيد أي تأثير في البذور رغم وجودها بين الجينات المسؤولة عن

شكل البذور في الجيل الأول (F_1). ووفقاً لذلك فقد فهم ماندل أن ظهور صفةٍ ما لا يعكس بالضرورة التركيب الوراثي الضمني لكائن ما.

يدعى في أيامنا هذه ظهور أي صفةٍ بـا'نمط الظاهري (Phenotype)، أما التركيب الوراثي فيدعى بالنمط الجيني (Genotype).

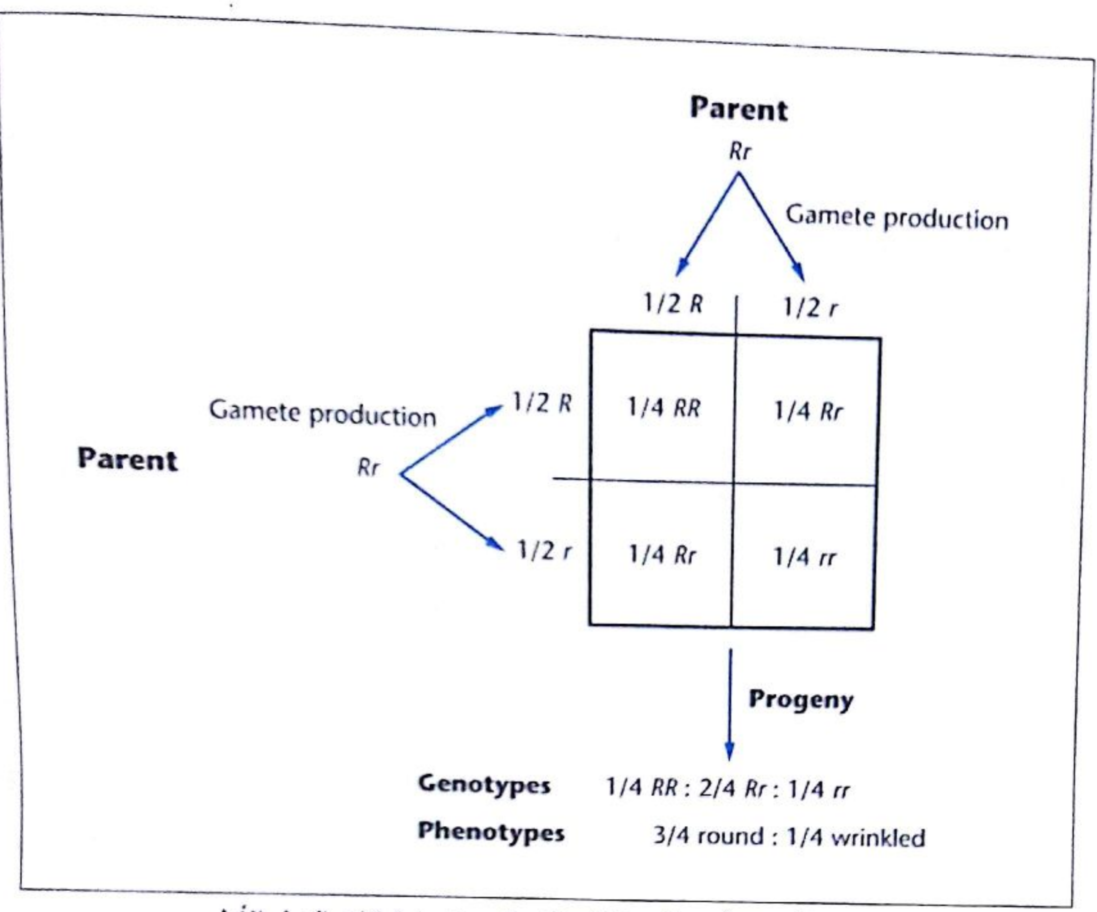
يتألف النمط الجيني في نباتات الجيل الأول (F_1) في دراسة ماندل من جين مسؤولة عن صفة البذور المدورة وأخرى مسؤولة عن صفة البذور المجعدة. وعندما يدرس نمط جيني ما فإن كل أزواج الجينات التي ليست تحت الدراسة تنحى جانباً. الجينات التي تحدد صفة شكل البذور (مدورة، مجعدة) هي أشكال متبدلة (ألائل: Alleles) لجين شكل البذور في نبات البازلاء. يقال على أليل صفة تدوير البذور أنه سائد (Dominant) لأن النمط الظاهري لكل البذور في نباتات الجيل الأول كان مدوراً. أما الأليل المسؤول عن صفة تجعيد البذور فيقال عنه الأليل المتنحي (Recessive allele).

يدعى الكائن الحي الحاوي على أليلين مختلفين لجين ما زَيْجوت مُتَغَايِرَة الأَلائِل (Heterozygote)، وذاك الحاوي على أليلين متشابهين زيجوت مُتَمَاثِلَة الأَلائِل (Homozygote). وفي حال كان تعبير الأليلين سائداً في كائن حي عندها يسمى ذاك الكائن زيجوت متماثل الألائل سائد (Homozygous dominant)، وإذا ما كان تعبير كلا الأليلين الموجودين في كائن حي متنحياً عندئذ يدعى الكائن الحي زيجوت متماثل الألائل متنحياً (Homozygous recessive).

يستخدم في الدراسات الوراثية لدى الكائنات الحية حيوانيةً كانت أم نباتيةً حرف وحيد كرمز للجين. يختار الحرف عادةً ليدل على بعضٍ من صفات النمط الظاهري المحددة بالأليل السائد. ويكون الحرف كبيراً ومائلاً إذا كان الأليل سائداً وصغيراً ومائلاً إذا كان الأليل متنحياً. مثلاً يرمز للأليل المسؤول عن صفة التدوير في بذور البازلاء بـ R والألائل المسؤولة عن الصفات المتنحية لشكل البذور بـ r. وعليه فإن النمط الجيني لنباتات البازلاء في دراسة ماندل السابقة هوكالآتي: RR للزيجوت متماثل الألائل السائدة، rr للزيجوت متماثل الألائل المتنحي، Rr للزَيْجوت مُتَغَايِرَة الأَلائِل.

يجب التنويه هنا أنه في مصطلحات الوراثة الدقيقة فإن التنحي والسيادة هما صفتان من صفات الأنماط الظاهرية وليس من صفات الجينات أو الألائل. ومع ذلك يتجنب الكثير من كتب الوراثة ذكر هذا التمييز لأن تعبيري الأليل المتنحي والأليل السائد متأصلٌ في فكر الكثير من الباحثين في علم الوراثة. ولن نخالف في هذا الكتاب سنّة الأولين في استخدام تسمية الأليل السائد والأليل المتنحي.

عندما زاوج ماندل في دراسته (صفة شكل البذور) بين نباتات الجيل الأول ($F_1 x F_1$) كانت تلك النباتات تحمل النمط الجيني (Rr x Rr)، بكلام آخر نصف الأعراس المتولدة عن تلك النباتات كانت تحمل الأليل R والنصف الثاني كان يحمل الأليل r. يستعمل مربع أنيت Punnett square (نسبة لعالم الوراثة في جامعة كامبريدج Punnett الذي نشر هذه الطريقة) لإظهار جميع التراكيب المحتملة لاجتماع الأعراس التي تتشكل أثناء الإلقاح العشوائي (**شكل 1-1**).



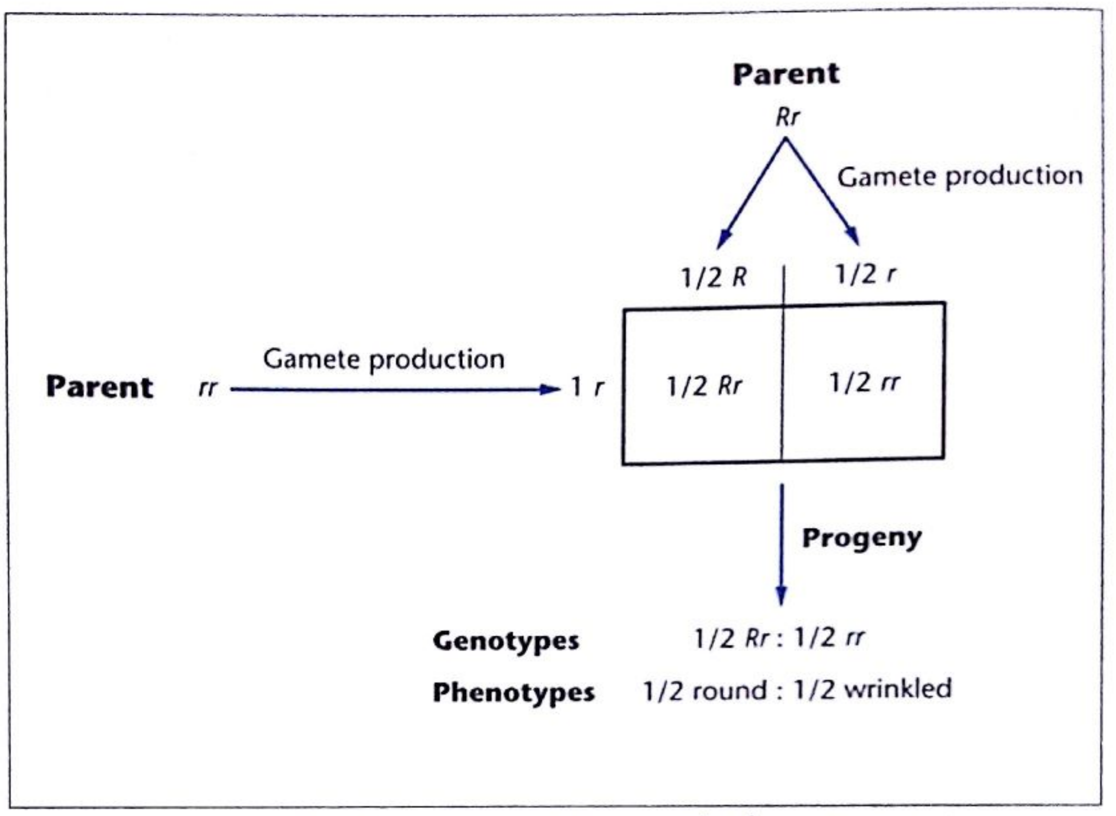
(شكل1-1):مربع أنت يُظهِر نتائج التصالب ما بين نباتات الجيل الأول .

تتحد الأعراس خلال عملية الإخصاب (Fertilization) بشكل عشوائي، وينتج عن ذلك عدة تراكيب جينية. بتعبير آخر، يمتلك نسل (F_2) ثلاثة أنماط جينية هي: RR، Rr، rr. ونمطين ظاهريين بالنسبة لشكل البذور: مدور ومجعد. وبحسب قانون الاحتمالات فإن 1/4 النسل سيحمل النمط الجيني RR و 1/4 النسل سيحمل النمط الجيني rr و1/2 النسل سيحمل النمط الجيني Rr.

وفيما يتعلق بنباتات الجيل الثاني (F_2) فإن تكراريات النمط الجيني فيها ستتوزع وفق النسب التالية: 1/4 زيجوت متماثل الألائل سائد RR، 1/2 زَيْجوت مُتَغَايِرَة الألائِل Rr، 1/4 زيجوت متماثل الألائل متنحي rr، أوبنسبة 1 : 2 : 1. وأما تكرارية النمط الظاهري التي لاحظها ماندل في نسل نباتات هذا الجيل فكانت وفق النسبة التالية: 3 : 1 وتعني ثلاثة أرباع النباتات تنتج بذوراً مدورة (RR أو Rr) مقابل ربع النباتات تنتج بذوراً مجعدة (rr).

لفحص مدى صحة العلاقة ما بين النمط الجيني والنمط الظاهري زاوج ماندل ما بين نباتات Rr مع نباتات rr. تنتج النباتات Rr مناصفةً أعراساً تحمل إما الأليل R وإما الأليل r، وستحمل كل أعراس النباتات rr الأليل r. وستكون نسبة النمط الجيني المتوقع في الجيل الأول الناجم عن هذا التزاوج 1 : 1

لكل من النمطين Rr وrr، وكذلك نسبة النمط الظاهري ستكون 1 : 1 بالنسبة لصفتي التدوير والتجعيد (شكل 1−2)



(شكل 1−2):مربع أنت يُظهر نتائج التصالب ما بين نباتات RR ونباتات rr.

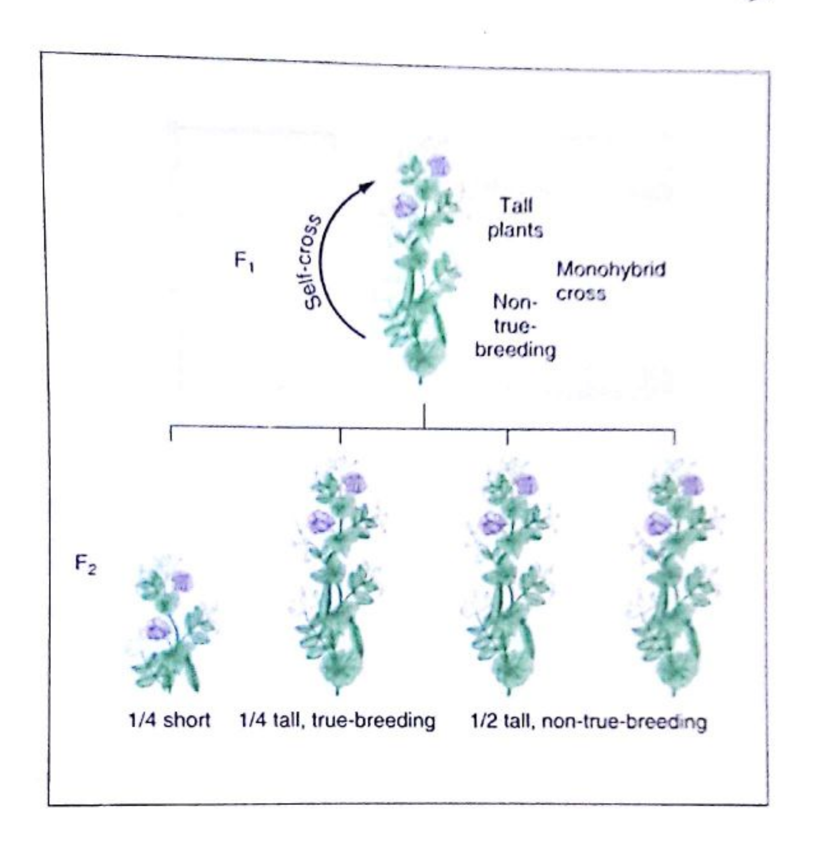
2.1. التصالب الاختباري (Test cross)

يُبدي النمط الجيني لكائن حي من الجيل الأول نجم عن تزاوج والدين متماثلي اللواقح أحدهما سائد وآخر متنحٍ نمطاً ظاهرياً سائداً. ولمعرفة النمط الجيني للنباتات قام ماندل بإجراء تصالبات ذاتية (Self−crosses) بين النباتات نفسها فيما يتعلق فقط في الخلات التي حددها في دراسته. تُدعى هذه التجربة بـ: هَجين أُحادِيّ الخلَّة (Monohybrid cross).

على سبيل المثال لمعرفة النمط الجيني للنبات طويل الساق (باعتبار صفة قصير الساق هي صفة متنحية tt)، إذا نتج عن تهجين فرد طويل الساق مع فرد قصير الساق أفراد طويلة الساق وأفراد قصيرة الساق يكون الفرد طويل الساق ذا نمط وراثي هجين Tt وليس نقياً TT وذلك بسبب ظهور صفة قصير الساق من جديد (شكل1−3) يُطلق على الأفراد التي تعطي لدى مزاوجتها بعضها مع بعض صفات مختلفة عن تلك المشاهدة في جيل الآباء باستيلاد غير حقيقي **Non−true−breeding**. يعادل مصطلح non−true−breeding في دراسة ماندل مصطلح زَيْجوت مُتَغَايِرَة الأَلائِل (Heterozygote).

في حين إذا تم تهجين الفرد طويل الساق مع فرد طويل الساق نقي (وهي الصفة السائدة) لمعرفة النمط الوراثي للجيل الأول فسوف ينتج أفراد كلها طويلة الساق. يُطلق على الأفراد التي تعطي لدى مزاوجتها بعضها مع بعض الصفات الأساسية نفسها دائماً باستيلاد حقيقي **True-breeding**.

لقد كان ماندل موفقاً إلى حدٍ كبيرٍ في الألائل التي اختارها لدراسته إذ عبّرت الألائل السائدة عن خلة سائدة واحدة، بمعنى آخر أعطى كلٌ من النمطين الزيجوت متماثل الألائل السائد والزَيْجوت مُتَغايِرَة الأَلائِل النمط الظاهري نفسه.



(شكل1-3) تجربة هَجين أُحادِيّ الخَلَّة (Monohybrid cross) بالنسبة لطول ساق النبات.

درس الباحثون لاحقاً بعد إعادة اكتشاف أعمال ماندل عدة صفات لجينات مفردةٍ في كائنات حية مختلفةٍ. ووجدوا أن الذين يملكون أنماطاً جينيةً لزيجوت متخالف الألائل غالباً ما يبدون أنماطاً ظاهريةً مختلفةً عن تلك التي تنجم عن الأنماط الجينية للزيجوت متماثل الألائل السائد وللزيجوت متماثل الألائل المتنحي.

إن مفهوم السيادة (Dominance) في الكثير من الأمثلة ليس هوبالظاهرة الكاملة ولا بالبسيطة، فالألائل المتنحية في الزَيْجوت مُتَغايِرَة الأَلائِلِ يمكن أن تساهم أوتعدل في النمط الظاهري، رغم أن هذا التعديل قد لا يبدوللعيان ببساطة دون إجراء فحوص كيميائية حيوية أو مجهرية. وإنه لمن الخطأ الجسيم الاعتقاد أن الأليل السائد هوأفضل من ذاك المتنحي. فالسيادة هي بروز تعبير أليل ما لدى

الزيجوت مُتغايرة الألائل. تنجم الأمراض الوراثية لدى الإنسان إما عن ألائل سائدة أوعن ألائل متنحية. كما يجدر التنويه هنا إلى أنه من المستحيل إجراء الدراسات الجينية دون وجودِ لألائل مختلفة، فإذا ما كان أفراد كائن حي ما هم جميعاً من متماثلي الألائل فإننا سنكون أمام نمط جيني وحيد ولن تظهر تجارب الإخصاب شيئاً حول نمط وراثة هذه الأليل.

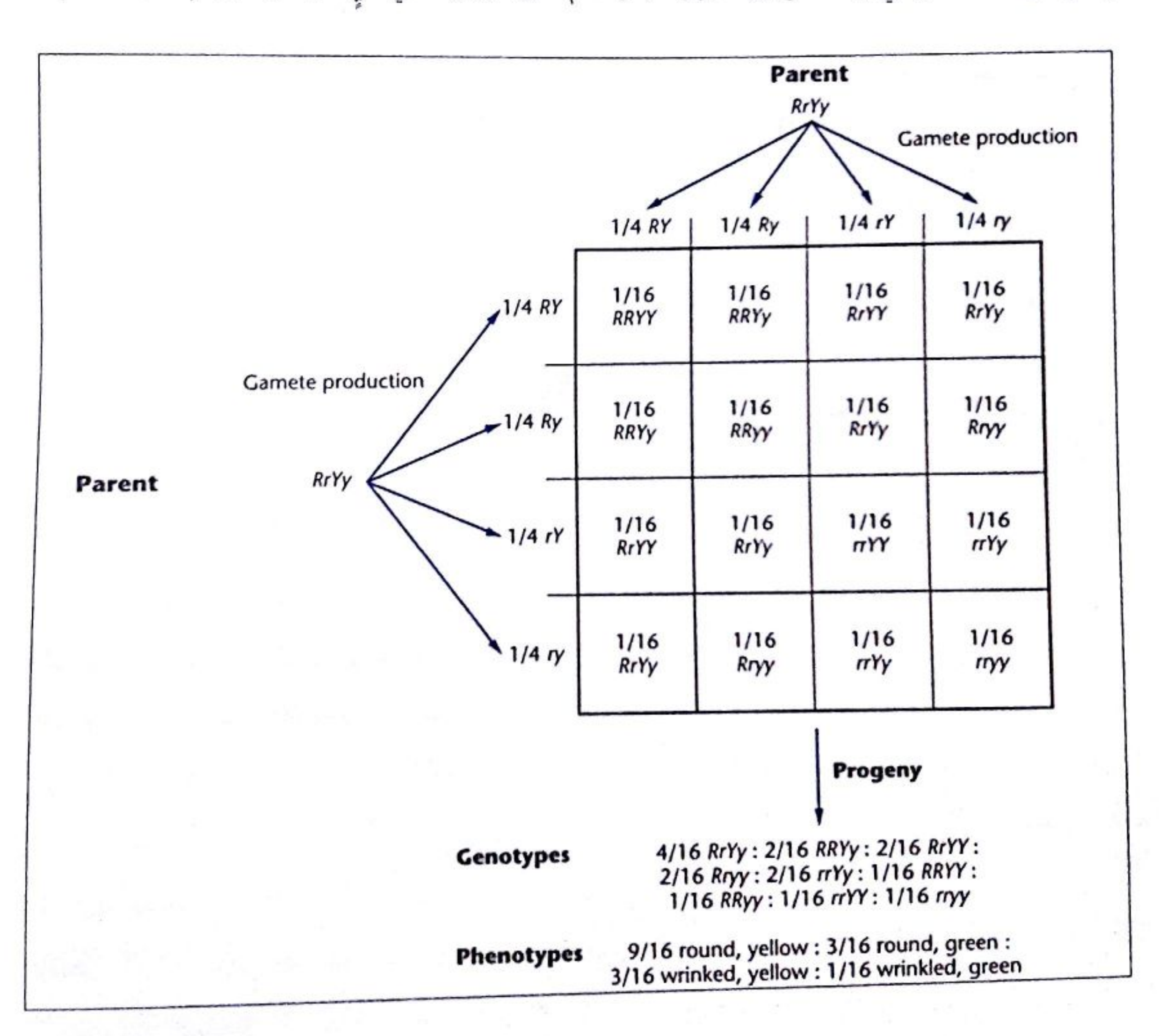
3.1. التفارز المستقل (Independent Assortment)

درس ماندل بالإضافة إلى التصالب وحيدة الجين (Monogenic cross) الترافق المحتوم لصفتين محددتين بزوجين من الجينات أو ما يسمى بالتصالب ثنائي الجين (Digenic cross). وافترض أن الجينتين إما أن تنتقلا بشكل مستقل الواحدة عن الأخرى من جيل إلى الذي يليه، أو أنهما تنتقلان معاً. فمثلاً، لدى مصالبة النباتات التي تعطي بذوراً مدورة وصفراء (RRYY) مع تلك التي تعطي بذوراً مجعدةً خضراء (rryy) فإن نباتات الجيل الأول ستحمل النمط الجيني التالي (RrYy)، وستعطي بذوراً مدورةً صفراء. لاحظ ماندل لدى إجراء الإخصاب ما بين نباتات الجيل الأول (RrYy x RrYy) ظهور أربعة أنواعٍ من البذور: 315 بذرة مدورة صفراء و108 بذرة مدورة خضراء و 101 مجعدة صفراء و32 مجعدة خضراء وفق النسبة التالية: 1 : 3 : 3 : 9. تبدوهذه النسبة للوهلة الأولى غريبةً، ولكن إذا ما أُخذَ شكل البذرة وحده فإن نسبة البذور المجعدة إلى المدورة هي (101 + 32) : (108 + 315) أو 1 : 3.2. الشيء نفسه وُجِد لدى دراسة صفة اللون إذ كانت نسبة البذور الخضراء إلى الصفراء (32 + 108) : (101 + 315) أو 1 : 2.9. وهي كما هومتوقع تقارب النسبة1 : 3 في الحالتين كليتهما.

عندما دُرست كل صفة على حدة أعطت نتائج مشابهة لما تعطيه التصالبات ما بين اثنين من الزيجوت متخالفي الألائل. ولكن في حالة دراسة أليلين لصفتين بعضها مع بعض وجد أن توزعهما في الأعراس يتم بشكل عشوائي. بمعنى آخر إن احتمال توزع الألائل المختلفة في الأعراس متعادل ما بينها. وبناءً على ذلك فقد أدرك ماندل أن والداً متخالف الألائل يعطي أعراساً تحمل بشكلٍ متساوأربعة أنماط جينية (*ry، rY، Ry،RY*). ومن ثمّ فإن التزاوج أوالتصالب ما بين أبوين *RrYy* سيعطي أنماطاً ظاهريةً بنسبة: 9 : 3 : 3 : 1 وأنماطاً جينيةً بنسبة: 4 : 2 : 2 : 2 : 2 : 1

(**شكل 1-4**) يدعى هذا النموذج من الوراثة بالتَفارُز المستقل. تتناغم نتائج ماندل مع سلوك الانقسام الانتصافي لصِبْغِيَّينِ لا مُتَماثِلين (Nonhomologous chromosomes). يُدعى مكان الجين على الصبغي بالموضع (Locus). يحصل التفارز المستقل (Independent Assortment) عندما تتوضع جينتان على صبغيين مختلفين. أظهرت تصالبات ماندل ثنائية الجين أن أنماطاً جينية جديدة يمكن أن تنشأ لا تشبه أياً من التراكيب الجينية الموجودة لدى الوالدين. يسبب وجود الأليل السائد في الأنماط الجينية المختلفة التالية: (*RRYy، RrYY، RrYy، RRYY*) ظهور نمط ظاهري وحيد (بذور

مدورة وصفراء). ينتج عن التصالب ما بين نبات ثنائي متخالف ألائل (*RrYy*) ونبات ثنائي متماثل ألائل متنحٍ (*rryy*) أربعة أنماط جينية ومثلها من الأنماط الظاهرية بنسب 1 : 1 : 1 : 1 (**شكل 5-1**) هذه النتائج متوقعة لأن الوالد ثنائي متخالف الألائل يعطي أعراساً تحمل أحد الأنماط الجينية الأربعة التالية وبنسبة متساوية إن كان عدد الأعراس كبيراً. وأما الوالد ثنائي متماثل ألائل متنح فيعطي نمطاً جينياً واحداً ضمن الأعراس. ومن ثم لوألقينا نظرةً على النسل الناجم عن التزاوج (*RrYy x rryy*) لوجدنا أن 50 % منه يملك النمط الجيني نفسه (*rryy، RrYy*) وهومطابق للنمط الجيني الوالدي. والنصف الباقي يملك تراكيب جينية جديدة لم تكن موجودة في أيٍ من الوالدين (**شكل 1-5**).

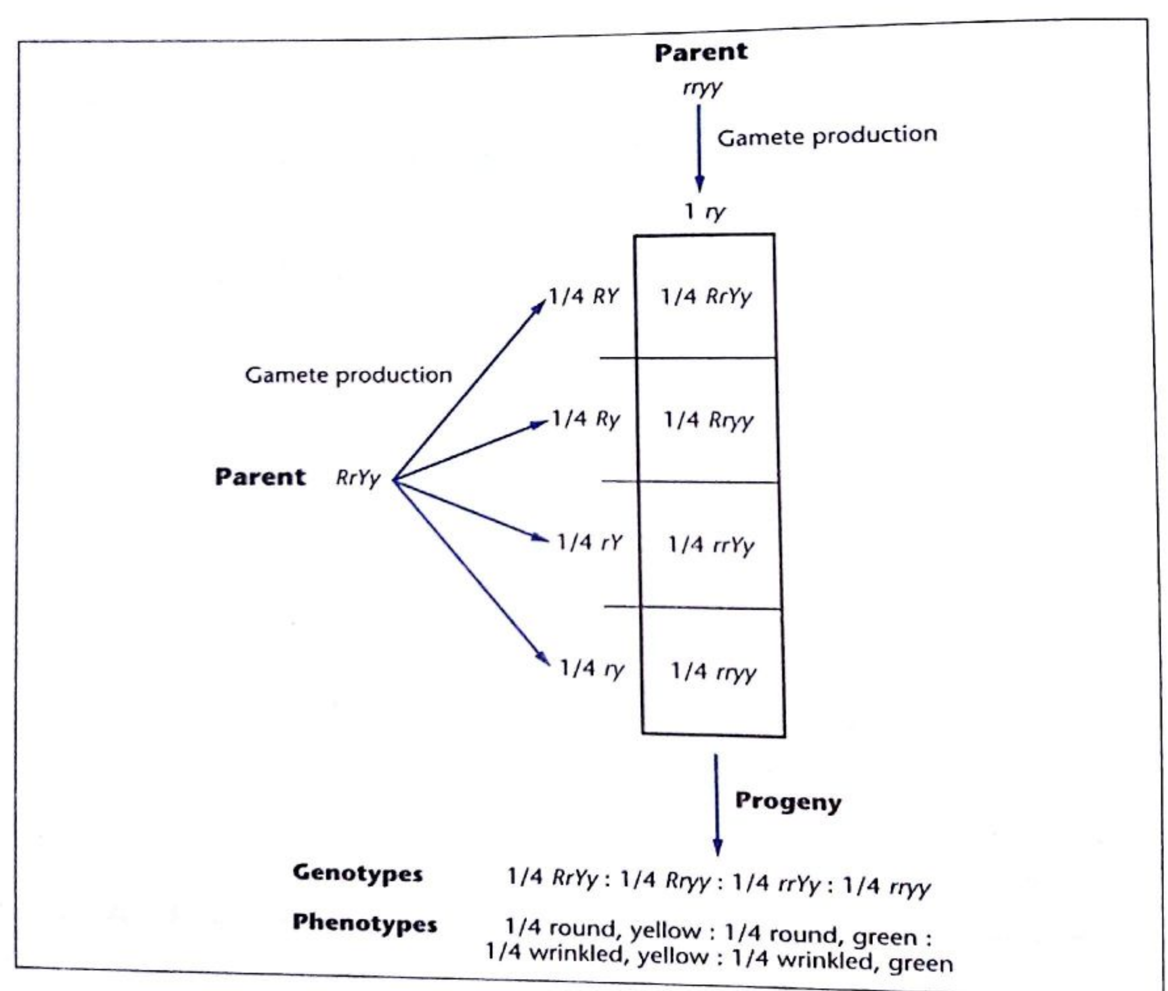


(شكل 1-4) مربع أنت يُظهِر نتائج التصالب ما بين نباتات *RrYy*.

يسمى في علم الوراثة التزاوج الذي يؤدي إلى ظهور أنماط ظاهرية في النسل متوافقة كل واحد منها مع أنماط جينية محددة سابقة بالتَزاوُج المُتَصالِب الرَجْعِيّ (Backcross mating).

أظهرت كل التصالبات التي أجراها ماندل على أزواج من الجينات (تصالبات ثنائية الجين) تفارزاً مستقلاً، لذا فمن البديهي الاعتقاد أن الجينات هي وحدات كاملة منفصلة. إن توزع الجينات وانتقالها من جيل إلى الذي يليه يشبه إلى حدٍ كبيرٍ توزع الصبغيات في الانقسام الانتصافي خلال تشكل الأعراس وهوما لم يكن معروفاً لماندل. وأما العلماء الذين أتوا بعد ماندل فقد أضحى واضحاً لديهم أن الجينات والصبغيات مرتبط أحدهما مع الآخر. كما أصبح واضحاً في نهاية القرن التاسع عشر أن عدد الصبغيات أقل بكثير من عدد الجينات. بكلمات أخرى، يحمل كل صبغي عدداً من الجينات. وبناءً على ذلك قد تتوضع بعض الجينات على الصبغي نفسه ويرتبط بعضها مع بعض بشكل خطي، وقد تُورَّث على شكل مجموعات. أما الجينات الموجودة على صبغيات مختلفة فلن يرتبط بعضها مع بعض وسوف تتفارز بشكل مستقل.

السؤال الذي لم يتطرق إليه ماندل كان: ما هو نموذج وراثة جينات مختلفة تشغل مواضع قريبة جداً بعضها من بعض على الصبغي نفسه؟



(شكل 1-5) نتائج التصالب ما بين نبات ***RrYy*** ونبات ***rryy***.

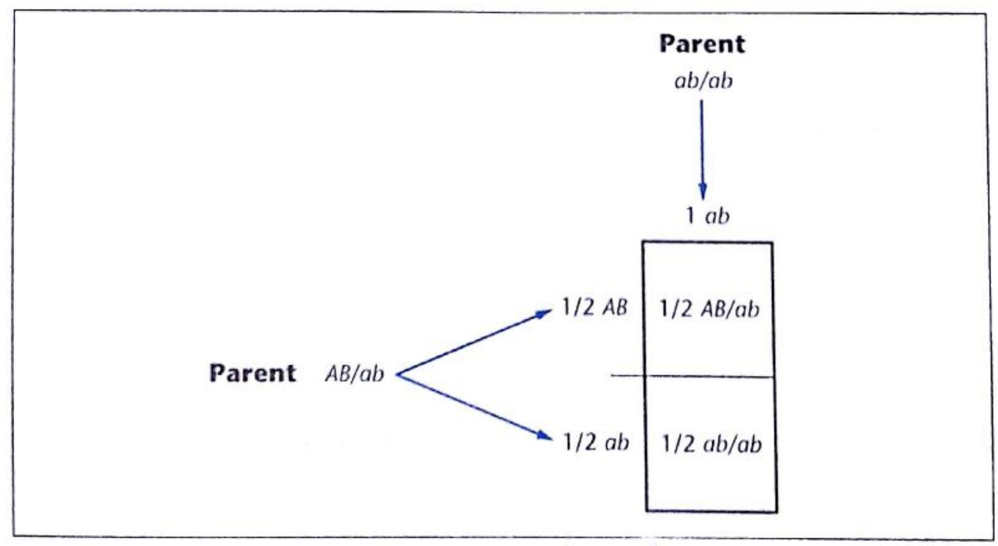
4.1. الارتباط الجيني (Genetic Linkage)

يعد تحديد الترتيب الخطي للجينات على طول الصبغي من أحد أهم الأهداف الرئيسية للدراسات الوراثية. إذا ما بقيت جينات على صبغي ما بعضها مع بعض أو بمصطلح جيني إذا ما كانت مرتبطة تماماً عندئذ ستنتقل إلى الأعراس كوحدة متكاملة ودون تشكيل أي من التراكيب الجينية الجديدة خلال الانقسام الانتصافي. يُرمَز للارتباط الجيني بخط مستقيم مفرد أوبخط مائل أمامي فاصلاً الجينات التي تتوضع على صبغيين متماثلين وفق الشكل التالي:

$$\frac{AB}{ab}, \frac{Ab}{aB}, \frac{AB}{AB} \quad \text{or} \quad AB/ab,\ Ab/aB,\ AB/AB$$

يُقرَأ المصطلح AB/ab كما يلي:

يتوضع الأليلان السائدان AB لموقعين جينيين مختلفين على الصبغي الأول، ويتوضع الأليلان المتنحيان ab في الموقعين الجينيين نفسهما ولكن على الصبغي الآخر المماثل. المقصود بكلمة المُماثِل هنا: الصبغي الأول الآتي من الأب والصبغي الأول الآخر الآتي من الأم. وهكذا سيعطي شخص متخالف الألائل (AB/ab)، وفي ظل وجود ارتباط كامل، نوعين من الأعراس ($1/2\ AB$،$1/2\ ab$). وسينجم عن التزاوج $AB/ab \times ab/ab$ نوعان من الأنماط الجينية ($1/2\ AB/ab$،$1/2\ ab/ab$) بين أفراد النسل، ولن تتشكل أي تركيبات جينية جديدة (**شكل 1-6**).



(شكل 1-6) التراكيب الجينية المُتشكّلة في الأعراس وفي النسل لدى وجود ارتباط كامل ما بين الجينتين.

بينما يؤدي التزاوج ما بين ثنائي متخالف الألائل مع ثنائي متماثل الألائل المتنحي، إذ تتوضع كلتا الجينتين على صبغيين غير متماثلين، إلى تشكيل 50% من التراكيب الجينية الجديدة التي لم تكن

موجودة لدى أي من الوالدين، وهوالحد الأعلى لنسبة التراكيب الجينية الجديدة، وهوما يمثل التفارز المستقل. ونتيجة لما سبق قد يعطي التزاوج تراكيب جينية جديدة تتراوح ما بين 0% و 50%.

نادراً ما يكون ارتباط الجين كاملاً بسبب أن حادثة التعابر بين شقي الصبغي اللّامُتآخِيين (الصبيغيين) (Nonsister chromatids) خلال الانقسام الانتصافي تؤدي إلى خلق تراكيب جينية جديدة. مثلاً يعطي التزاوج ما بين ثنائي متخالف ألائل (*AaBb*) مع ثنائي متخالف ألائل متنح (*aabb*) أربعة أنماط ظاهرية تمثل أربعة أنماط جينية من بينها اثنان من التراكيب الجينية الجديدة (*aaBb*، *Aabb*). لقد تبيّن في حالة التفارز المستقل ولدى تكرار التجارب أن التركيب الجيني الجديد يظهر لدى 10% من مجموع النسل، أما التركيب الجيني الوالديّ فكل واحدٍ منهما يظهر لدى 40% من مجمل النسل **(جدول 1-1)** ما تفسير تلك النتائج؟

Phenotype	Genotype	Frequency
AB	*AaBb*	40%
Ab	*Aabb*	10%
aB	*aaBb*	10%
ab	*aabb*	40%

(جدول 1-1) تكرارية النمط الجيني لتصالب *AaBb* مع *aabb*.

أولاً: بما أن نسبة التركيبات الجينية الجديدة الناجمة عن تزاوج كهذا أقل من 50% فهذا يعني أن الموقعين الجينيين غير متفارزين بشكل مستقل، وبمصطلح الوراثة هاتان الجينتان مرتبطتان جينياً على الصبغي نفسه.

ثانياً: تكرارية التركيبات الجينية الجديدة أكبر من 0%، وهذا يعني أن الجينتين غير مرتبطتين بشكل كامل.

ثالثاً: مجموع تكرارات التراكيب الجينية الجديدة 20%. إن وجود نسبة من التراكيب الجينية الجديدة في نسل تزاوج ما ما هو إلا انعكاس لوجود تبادل فيزيائي بين موقعين جينيين بتكرارية معينة ما بين شقَّي الصِّبْغِيِّ اللّامُتَآخَيين (Nonsister chromatids) خلال الانقسام الانتصافي.

كيف نشرح ظهور تراكيب جينية جديدة بنسبة 10% لكل تركيب، وتكرار التراكيب الجينية الوالدية بنسبة 40% لكل والد؟

يحدث، في مثالنا السابق، خلال الانقسام الانتصافي تعابر وحيد ما بين موقعين لدى الوالد ثنائي متخالف الألائل. ومن ثم يبقى اثنان من شقي الصبغي دون أن يمسهما التعابر، وآخران سيحدث فيهما تعابر

(شكل 1-7) وبعد تشكيل الأعراس يستقبل كل عرس شق صبغي واحد. وعندما يحصل في 40 من أصل 100 انقسام انتصافي تعابر وحيد بين موقعي جينتين فإن 80 عِرْساً (Gamete) سيستقبل شق الصبغي الحاوي على التعابر، ويسمى شق الصبغي المأشوب (Recombined chromatid) و80 عرساً سيستقبل شق الصبغي غير الحاوي على التعابر أوشق الصبغي غير المأشوب (Nonrecombined chromatid). وأما الستون انقساماً انتصافياً المتبقية فسيتولد عنها 240 عرساً كلها تحمل أشقاء صبغية والدية (Parental chromatids). وعليه بإجراء عملية حسابيةٍ بسيطةٍ يمكن معرفة نسبة الأعراس الحاملة لتراكيب جينية جديدة بقسمة تلك الحاملة لتلك التراكيب الجديدة على كامل عدد الأعراس، وفي مثالنا هذا تحسب كما يلي:

$$80 / (80 + 80 + 240) = 0.20$$

	Meiotic chromosomes	Meiotic products	
%60 Meioses with no crossover between the genes	A B	A B	Parental
	A B	A B	Parental
	a b	a b	Parental
	a b	a b	Parental
%40 Meioses with a crossover between the genes	A B	A B	Parental
	A B	A b	Recombinant
	a b	a B	Recombinant
	a b	a b	Parental

(شكل 1-7) آلية تشكيل شق الصبغي المأشوب خلال حادثة التعابر بين الموقعين A وB.

اتُفق اصطلاحياً على أن 1% من التأشيب تعادل 1 وحدة خريطة (Map unit: mu). وفي المثال السابق المسافة الجينية ما بين موقعي الجينتين هو 20 mu. السَنْتِي مُورْغان (Centimorgan: cM) هو وحدة قياس تستعمل من أجل تحديد المسافة بين جينتين على الصبغي. يكافىء 1% تأشيب عادةً 1cM، وعندما يكون التأشيب بين موقعي جينتين أكبر من 10% فإن القياس المعطى بالسنتي مورغان يمثّل قيمة إحصائية مصححة. ذلك أن نسبة التأشيب المشاهدة لا تعكس بشكلٍ صحيحٍ المسافة الحقيقية بين الموقعين. فمثلاً عند نسبة تأشيب تبلغ 20% تقدر المسافة على الخريطة بـ 20mu وبـ 21.2 cM.

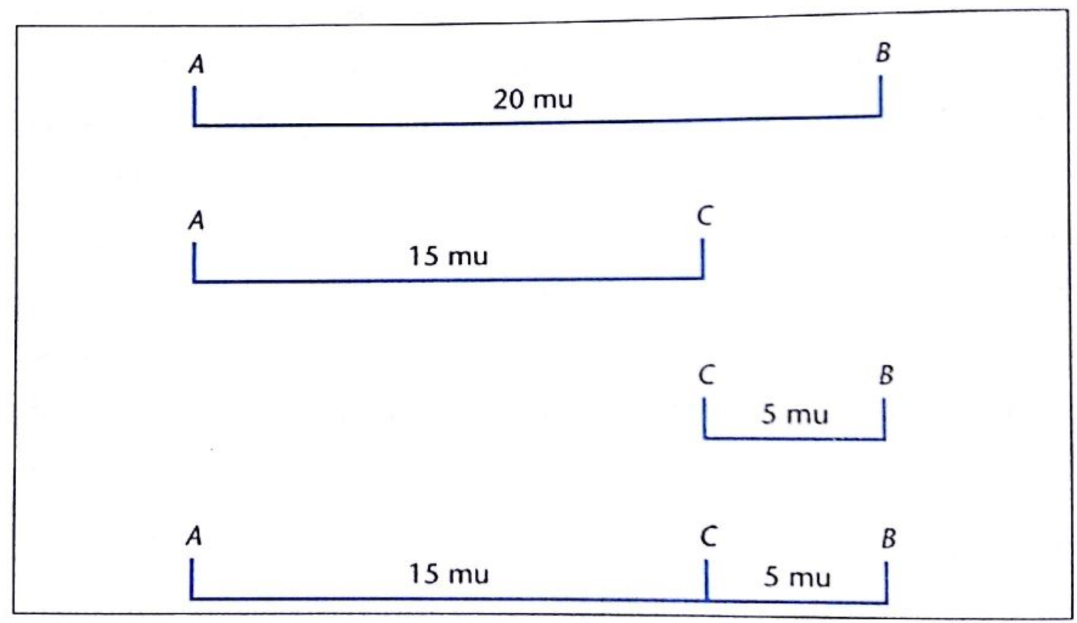
لقد أظهر التزاوج *AaBb* x *aabb* أن موقعي الجينتين متباعدتان بـ 20mu. وتشكل الأنماط الظاهرية

AB و*ab* الأغلبية بين مجمل الأنماط الظاهرية، وهي تمثل الصبغيات غير المؤشبة. ونتيجة لذلك يكون الترتيب الجيني للوالد ثنائي متخالف الألائل على النحوالتالي: *AB/ab*، والتزاوج يجب أن يمثل على النحوالتالي: *AB/ab x ab/ab*.

يدعى الشكل *AB/ab* بالطور المقرون (cis phase)، والشكل *Ab/aB* بالطور المفروق (trans phase). ويعتمد تشكل الأنماط الجينية ونوعها خلال تشكل الأعراس على شكل النمط الجيني لدى الوالد ثنائي متخالف الألائل مقروناً كان أم مفروقاً. ففي الشكل المقرون *AB/ab* تمثل الأعراس *ab* و*AB* الألائل غير المؤشبة، والأعراس *Ab* و*aB* الألائل المؤشبة. وعلى العكس من ذلك في الشكل المفروق *Ab/aB* تمثل الأعراس *aB* و*Ab* الألائل غير المؤشبة، والأعراس *AB* و*ab* الألائل المؤشبة.

5.1. إنشاء الخرائط الجينية (Constructing Genetic Maps)

قد ينجم ترتيب الجينات على طور الذراع في صبغي ما عن التصالبات المتبادلة. مثلاً إذا كان الموقع A يبعد بمقدار 20mu عن الموقع B، والموقع C يبعد عن الموقع B بمقدار 5mu وعن الموقع A بمقدار 15mu، عندها يمكن الاستنتاج أن الموقع C يقع بين الموقعين A و B (**شكل 1-8**).



(شكل 1-8) طريقة معرفة مواضع الجينات على صبغي واحد.

وبناءً على ما سبق فإن المسافة على الخريطة ما بين الموقع A والموقع B هي حسابية (جمع) ما بين المسافتين A–C و C–B أي 15 + 5 = 20.

تدعى مجموعة من المواقع الجينية المرتبة بشكل خطي والمعنونة بمسافات على الخريطة بالخريطة الجينية (Genetic map). ويمكن أن يكون ترتيب المواقع الثلاثة سابقة الذكر ACB أو BCA لأننا في

هذه المرحلة المبكرة لم نحدد اتجاه الجينات على ذراع الصبغي. لا يمكن تحويل المسافة الجينية بين موقعين إلى مسافة فيزيائية أو إلى وحدات من الدنا. لكن الكثير من الدراسات على جينتين محددتين في خريطة على صبغي ما أشارت إلى أن السنتي مورغان الواحد (1cM) يعادل تقريباً مليون شفع من أسس الدنا (DNA base pairs).

6.1. الألائل المتعددة (Multiple Alleles)

يمكن أن يملك نظرياً أي موقع جيني عدداً كبيراً من الألائل المختلفة. الجينات على مستوى الدنا هي تسلسل من أزواجٍ من النوكليوتيدات (Nucleotide pairs) التي ترمز المعلومات الخاصة بمنتج تلك الجين الذي هوبروتين في معظم الحالات. يؤدي تغير واحد من أصل آلاف أزواج النوكليوتيدات إلى نشوء أليل. ولكن لأسباب عملية تصنف فقط الألائل التي تسبب تغيرات ملحوظة في النمط الظاهري الطبيعي ضمن خانة الألائل.

تُعطى الجينات البشرية رموزاً من أحرفٍ كبيرةٍ مائلةٍ بحسب الـ ISGN (International System for Human Gene Nomenclature). يعكس هذا الرمز صفة الحالة التي تتحدد بأليل الجين الطبيعي. تشير النجمة * بعد الرمز إلى وجود أليلٍ ما للجين يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار. تعطى الألائل أرقاماً عربيةً لتميّز بعضها من بعض (إلاّ في حالات استثنائية مثل جين الزمر الدموية)، ترمز مثلاً الجين المرمزة لنازِعَة أَمينِ الأدينوزين (Adenosine deaminase gene) بـ *ADA**1 و *ADA**2.

يمثل النمط الظاهري بنفس الأحرف المستخدمة في ترميز الجينات، ولكن لا يستعمل الخط المائل في كتابته، وتستبدل النجمة بفراغ مثلاً يرمز النمط الظاهري للزيجوت متخالف الألائل *ADA**1/*ADA**2 بـ *ADA* 1,2.

يرمز للأمراض الوراثية مثل داء هَنْتِنْغتُون (Huntington disease) وداء ألزهايمر (Alzheimer disease) والتَلَيُّف الكيسِيّ (Cystic fibrosis) بنفس الرمز المستخدم لموقع جيناتها. مع أنه من غير المؤكد فيما إذا كانت الجين الطبيعية في داء هَنْتِنْغتُون مثلاً هي المسؤولة عن الحالة أوأن أليلاً آخر (أو ألائل) يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار.

يضاف الحرف N إلى رمز الجين للدلالة على الأليل الطبيعي لهذه الجين مثل *HD*N*. وأما الحرفان R و D فيشيران بالترتيب إلى أن الأليل متنح أوسائد. وعندما يتحدد منتج الجين فيستبدل رمز الجين العام بواحد أكثر دقة. كان CF في البداية رمزاً لموقع التليف الكيسي، وبعد اكتشاف البروتين المرمّز من قبل الجين *CF* [illegible] وهو *CFTR* (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) تغير رمز الجين إلى *CFTR*.

تعد جين الزمر الدموية ABO لدى الإنسان التي تشغل الموقع 9q34.2 واحدة من أفضل الأمثلة عن الألائل المتعددة. وتشكل الألائل *ABO*A*، *ABO*B*، *ABO* O* الألائل الرئيسية المسؤولة عن الزمر الدموية: O، AB، B ، A. يعد الأليلان *ABO*A*، *ABO*B* أليلين سائدين بالنسبة للأليل *ABO*O*، بينما ينتج كل منهما نمطه الظاهري الخاص به لدى حضورهما معاً، يطلق على هذه الحالة السِيادَة المُشْتَرَكَة (Codominance). ينجم عن ظاهرتي السيادة والسيادة المشتركة أربعة أنماطٍ ظاهريةٍ ترمز من قبل ستة أنماط جينيةٍ **(جدول 1-2)**.

Genotypes	Phenotypes
*ABO*A/ABO*A*	ABO A
*ABO*A/ABO*B*	ABO AB
*ABO*A/ABO*O*	ABO A
*ABO*B/ABO*B*	ABO B
*ABO*B/ABO*O*	ABO B
*ABO*O/ABO*O*	ABO O

(جدول1-2) النمط الجيني والنمط الظاهري للزمر الدموية.

تختلف زمر الدم فيما بينها بسلسلة قليل السكاريد (Oligosaccharide chains) المرتبطة على سطح الكرية الحمراء. يصطنع كل إنسان قليل السكاريد O أوما يسمى بالمستضد (H antigen). يرمز الأليل *ABO*A* إنزيم ناقِلَةُ الغليكُوزيل (Glycosyltransferase) الذي يضيف زمرة N-acetylgalactosamine إلى المستضد H ليشكل قليل السكاريد ذا النمط A. يرمز الأليل ABO*B نوع مغاير من إنزيم ناقِلَة الغليكُوزيل (Glycosyltransferase) الذي يضيف زمرة Galactose إلى المستضد H ليشكل قليل السكاريد ذا النمط B. لا يرمز الأليل *ABO*O* أي بروتين يؤثر في المستضد H ليبقى قليل السكاريد ذوالنمط O على حاله. يُصطنع في النمط الجيني *ABO*A/ABO*B* النمطان كلاهما من إنزيم ناقِلَة الغليكُوزيل ويتشكل كلا النمطين من قليل السكاريد B و A.

على مستوى الدنا يختلف أليلا *ABO*A* و*ABO*B* بعضهما عن بعض بأربعة أزواج من النوكليوتيدات، وأما الأليل *ABO*O* فينقصه زوج من النوكليوتيدات.

7.1. الوراثة البشرية (Human Genetics)

تختلف الطرائق المستخدمة في دراسة وراثة الخَلّات (Traits) لدى الإنسان عن تلك المستخدمة في دراسة وراثة الخلات في كائنات أخرى مثل: البازلاء، الذرة، القمح، ذبابة الفاكهة، الديدان المُدَوَّرَة (Roundworms).

يتكون المجتمع البشري من عائلات صغيرة وأزمنة أجيال طويلة مقارنةً بالكائنات الحية المذكورة أعلاه. ومن ثم لا يمكن توقع تناسبات ماندل بين أفراد ذرية من زواج واحد. ولا يجب إغفال الاعتبارات الأخلاقية والمعنوية والعملية، إذ لا يمكننا إجراء زيجات بناءً على أساس النمط الجيني للوالدين أوإجراء الزيجات بين أفراد النسل لزواج واحد.

تمكن دراسة الوراثة البشرية للخلات من خلال منظورين:

- دراسة وتحليل بيانات أعداد كبيرة من البشر: تجمع البيانات ثم تطبق عليها طرائق حسابية لاستنتاج فيما إذا كانت خلة ما موروثة. تستغرق هذه الطريقة وقتاً وقد تكون مكلفةً ومملةً.
- يمكن أن تدرس وراثة خلة ما بين الأقارب ضمن عائلات مفردة، ويفضل أن تكون العائلات كبيرةً وممتدةً لعدة أجيال. تعد هذه الطريقة أسهل مقارنةً بالدراسات السكانية، وتستخدم بشكلٍ واسع هذه الأيام لدراسة الأمراض الوراثية عند الإنسان.

يمكننا مشاهدة نمط وراثة خلة ضمن عائلةٍ ما عن طريق إنشاء شجرة النسب (Pedigree). مصطلح الـ Pedigree إنكليزي مشتق من الجملة الفرنسية أقدام طائر الكركي (Pied de grue).

تحتوي شجرة النسب المستخدمة في الدراسات الوراثية على مجموعة من الرموز بغية وصف العلاقة ما بين أفراد العائلة وتاريخ الصفة ضمنها، وتعدُّ أشجار النسب بيانات تجريبيةً ضروريةً لعلماء الوراثة **(شكل 1-9)**.

(شكل 1–9) تمثيل بياني لشجرة النسب. تشير الدائرة للأنثى، والمربع للذكر، والدائرة أو المربع الممتلئ للشخص المصاب، والأرقام اللاتينية (I، II، III...) لرقم الجيل، والأرقام العربية (1، 2، 3 ...) لترتيب الفرد ضمن كل جيل، والخط الأفقي ما بين ذكر وأنثى لزواج، والخط الأفقي المزدوج ما بين ذكر وأنثى لزواج قربى (قرابة دم). يربط ما بين الأشقاء لوالدين خطوط أفقية ترسم أعلى الدوائر أوالمربعات. يربط ما بين الخط الأفقي الممثل للعلاقة الزوجية وذاك الواصل ما بين الأشقاء خط عمودي نازل. يُرتب الأفراد الأقارب ضمن الجيل الواحد بحسب ولادتهم من الأكبر حتى الأصغر، من اليسار إلى اليمين. يشير الخط المائل ضمن المربع أوالدائرة (I-1 ، I-2) إلى أن الشخص مات أثناء إنشاء شجرة النسب. يدل المعين إلى أن جنس الفرد غير معروف (II-1). يربط ما بين تَوءمَي الزِّيجوتِ الوَاحِدَة (Monozygotic twins) خطان متشعبان، وفي أعلاهما خط أفقي (III-7، III-8). يربط ما بين تَوءَمي البَيضَتَين (Dizygotic twins) خطان متشعبان دون أي زيادة (IV-6، IV-7). يدل الرمز الصغير على أن الفرد قد مات خلال مرحلة مبكرة من عمره أوخلال الطفولة (IV-5). تضاف أحياناً معلومات إضافية تحت كل رمز تتعلق بتاريخ الولادة أو الوفاة، والنمط الجيني. يُغفل أحياناً أحد الزوجين لتوفير المساحة لدى رسم شجرة النسب وبسبب عدم مساهمته الجينية في الدراسة، في هذه الحالة يرسم خط نازل مباشرةً من الوالد البيولوجي (Biological parent) إلى الولد أو إلى الخط الواصل بين الأشقاء (IV-3 إلى V-1 و V-2). يشير السهم إلى الفرد الذي بدأت من عنده الدراسة.

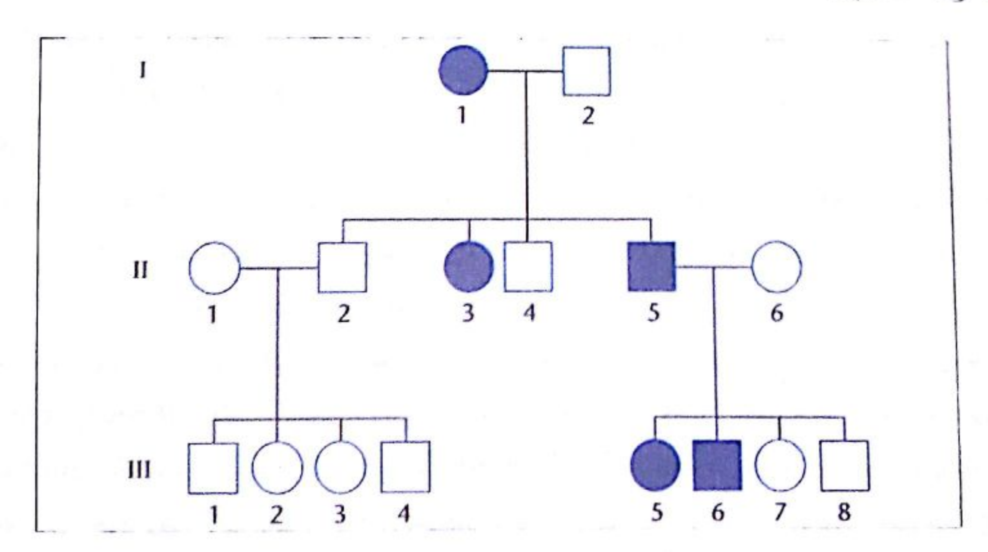
تساعد مجموعة مؤكدة من الصفات السريرية لنمط ظاهري بشري في تقييم الحالة إن كانت موروثةً أم لا. وفي وضع أو تطوير المعالجة المناسبة لها. أما إذا كان وصف الحالة غير دقيق فإن اعتلالات وراثية وغير وراثية يمكن أن يجتمع بعضها مع بعض مما يسبب تشويشاً على التحليل والمعالجة.

تحتاج بعض الدراسات إلى عدة أشجار نسب لجمع معلومات وراثية كاملة غير مشوشة، فيما تكفي أحياناً عائلة واحدة كبيرة متعددة الأجيال للقيام بالمهمة نفسها. وقد حدد الباحثون في مجال الوراثة البشرية أربعة نماذج مختلفة يمكن أن تورث فيها خلة ما محددة بموقع جيني واحد ضمن عائلة. تشمل هذه النماذج أحادية الجين (Monogenic): جسدي سائد (Autosomal dominant)، جسدي متنح (Autosomal dominant)، مرتبط بالجنس متنح (X-linked recessive)، مرتبط بالجنس سائد (X-linked dominant).

1.7.1. الوراثة الجسدية السائدة (Autosomal Dominant Inheritance)

يوجد نحو 200 حالة وراثية بشرية سببها جينات جسدية سائدة. تحدث هذه الاعتلالات الجسدية السائدة بتواترات مختلفة، ويمكن أن تؤثر في أي عضو في الجسم **(جدول 1-3)**

يمثّل **(الشكل 1-10)** شجرة نسب نموذجية لوراثة جسدية سائدة يظهر فيها أفرادٌ مصابون عبر أجيالٍ متعاقبةٍ وبشكل متساوبين الذكور والإناث. يلاحظ أيضاً أن كل فردٍ مصابٍ أحد والديه بالضرورة مصاب، والوالدان غير المصابين ليس لديهما أولاد مصابون، والفردان غير المصابين إذا ما تزوجا فمن النادر أن يولد لهما ولدٌ مصابٌ.



(الشكل 1-10) شجرة نسب نموذجية لوراثة جسدية سائدة.

(جدول 1-3) بعض الاضطرابات الجسدية السائدة لدى الإنسان.

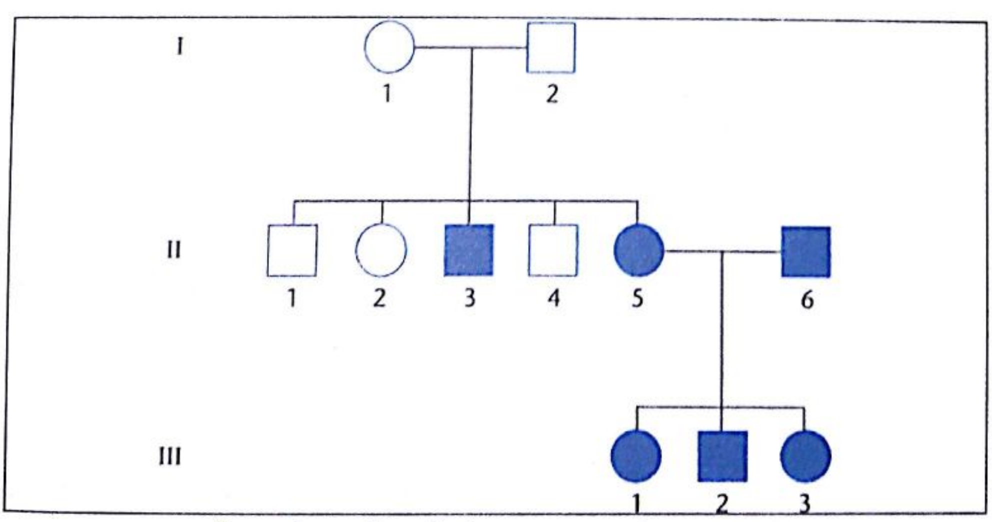
الاضطراب (Disorder)	الانتشار (Prevalence)	الوصف (Description)
داءُ هَنْتِنْغتون (Huntington disease)	10000 / 1	بدء متأخر (Late onset)، تنكس في قشرة المخ (cerebral cortex) والعُقَدُ القاعِدِيَّة (Basal ganglia)، حَرَكَةٌ لاإرادِيَّة (Involuntary movement) أورقص (Chorea)، خَرَف (Dementia).
الوَرام الليفيّ العَصَبيّ النمط الأول (Neurofibromatosis type1)	5000 / 1	أورام ليفية عصبية متعددة (Multiple neurofibromas) على أعصاب الرأس والرقبة والجسم، بقع مُصْطَبِغة (Pigmented spots) قهوة بالحليب (Café au lait).
التَّصَلُّب الحَدَبِيّ (Tuberous sclerosis)	5800 / 1	مُتَعَدِّدُ الأَجْهِزة (Multisystem)، تنموأورامٌ عابِيَةٌ (hamartomas) في الدماغ والعيون والجلد والكلى والقلب والرئتين والهيكل.
حَثَلُ التَّأَتُّرِ العَضَلِيّ (Myotonic dystrophy)	8000 / 1	متعدد الأجهزة، تقلص عضلة مطول أوتأتُّر العَضَل (Myotonia)، هُزال(Wasting) وضعف عضلي متغير أوضمور (Atrophy)، ساد (Cataract)، توصيل معيب للنبضات في القلب (defective impulse conduction by the heart)، قُصورُ الغُدَدِ التَّناسُلِيَّة (Hypogonadism).
داء الكُلْيَة مُتَعَدِّدَة الكيسات (Polycystic kidney disease)	1000 / 1	متغاير جينياً، تفاوت في عمر البدء، كيسات كلية (Kidney cysts)، تناقص مقدرة الكلية على التركيز ، تضخم الكلية (Enlarged kidney)، فَرْطُ الضَّغْط (Hypertension).
الْتِهابُ الشَّبَكِيَّةِ الصِّباغِيّ (Retinitis pigmentosa)	4000 / 1	متغاير جينياً (Genetically heterogeneous)، تناقص متدرج في الرؤية الليلية، حِدَّةُ الإبصار (Visual acuity).
مُتَلازِمَةُ مارفان (Marfan syndrome)	10000 / 1	متعدد الأجهزة، أصابع اليد والقدم طويلة أوعَنْكَبِيَّةُ الأصابع (Arachnodactyly)، تشوهات هيكلية، تقلقل مفاصل (Loose joints)، خلع في

		عدسات العين (Ocular lens dislocation)، اعتلال في الرؤية، اعتلالات قلبية وعائية، جَنَف (Scoliosis)، تمزق في الأبهر (Rupture ofthe aorta).
مُتَلاَزِمَة فاردينبيرغ (Waardenburg syndrome)	100000 / 1	ابيضاض شعر مقدمة الرأس، شيب مبكر، اختلاف في لون العينين، صمم (Deafness).
فَرَطُ كوليستيرولِ الدَّم (Hypercholesterolemia)	500 / 1	ارتفاع مستوى الكوليستيرول المصلي، بدء مبكر لمرض الشريان التاجي (Coronary artery disease).
تَكَوُّنُ العَظْمِ النَّاقِص (Osteogenesis imperfecta)	10000 / 1	متغاير جينياً، متغاير سريرياً (Clinically heterogeneous)، تشوه عظمي (Bone deformity)، عظام هشة (Brittle bones)، صمم، صُلْبَةٌ زَرْقاء (Blue sclera).

2.7.1. الوراثة الجسدية المتنحية (Autosomal Recessive Inheritance)

تؤثر الوراثة الجسدية المتنحية في طيف من الأعضاء في جسم الإنسان **جدول 1-4**. تنجم هذه الحالة من الوراثة عن عيب في أليلين في الموقع نفسه من الصبغيين.

تتميز شجرة النسب الحاوية على حالة/حالات وراثة جسدية متنحية بخلوها من إصابة لأحد الوالدين اللذين لديهم ولد مصاب، وبعدم وجود فرق بين عدد الذكور والإناث المصابين، وبظهور الإصابة لدى كل الأولاد في حال كان الوالدان مصابين. كما يمكن أن تظهر الإصابة لدى ابن لزواج أقارب (أولاد العم أوالخال) (**شكل 1-11**).



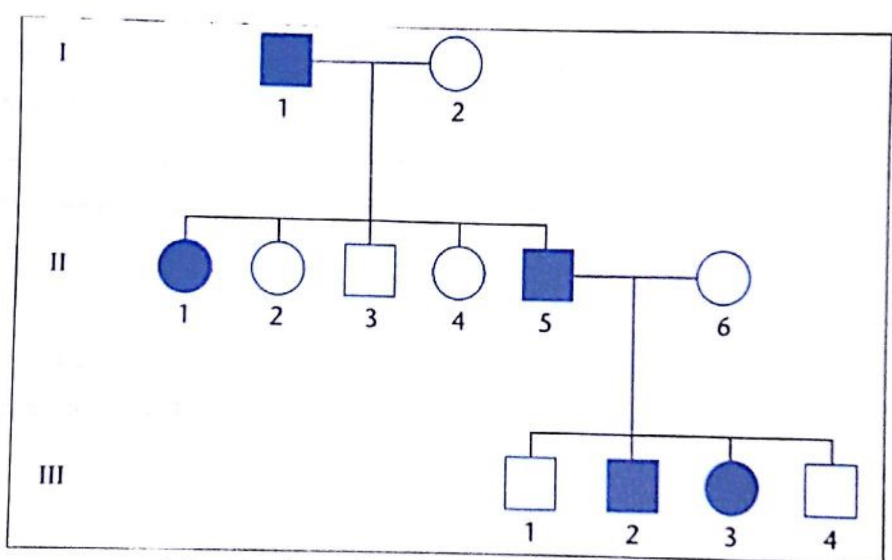
(الشكل 1-11) شجرة نسب نموذجية لوراثة جسدية متنحية.

(جدول 1-4) بعض الاضطرابات الجسدية المتنحية لدى الإنسان.

الاضطراب (Disorder)	الانتشار (Prevalence)	الوصف (Description)
تَلَيُّفٌ كيسِيّ (Cystic fibrosis)	2500 / 1	متعدد الأجهزة، عيب في نقل الكلور في الأنسجة الظِهاريّة (Epithelial tissues)، انسداد القُنَيّات (Ductules) والمسالك الهوائية الصغيرة (Small airways)، داء رئوي وخيم، قصور معثكلي (Pancreatic insufficiency)، التهاب جيوب (Sinusitis)، عقم (Iinfertility).
سُماكٌ صُفاحِيّ (Lamellar ichthyosis)	25000 / 1	اضطراب في الجلد: تشوه في المظهر، حراشف كبيرة (Large scales)، احمرارات متغيرة (Variable redness).
تَنَكُسُ ويلسون (Wilson disease)	40000 / 1	مرض كبدي مزمن، تراكم النحاس في الكبد والدماغ وأعضاء أخرى، اعتلال متدرج في الجهاز العصبي.
داءُ غوشيه النمط الأول (Gaucher disease type 1)	50000 / 1	ازدياد تكسر كريات الدم الحمراء في الطحال أو فَرْطُ نَشَاطِ الطِّحال (Hypersplenism)، ضَخامَةُ الكَبِدِ والطِّحال (Hepatosplenomegaly)، هشاشة عظام.
رَنَحُ فريدْرايخ (Friedreich ataxia)	50000 / 1	يبدأ عند البلوغ (Onset at puberty)، عدم مقدرة العضلات على التنسيق للقيام بحركة إرادية وأورَنَح (Ataxia)، عدم المقدرة على الكلام أورُتَّة (عُسْرُ التَّلَفُّظ) (Dysarthria)، ضمور عضلي (Muscle atrophy).
ضُمورٌ عَضَلِيٌّ نُخاعِيُّ المَنْشَأ طفلي (Childhood spinalmuscular atrophy)	10000 / 1	متغاير جينياً، متغير، تنكس القرن الأمامي للحبل الشوكي (Degeneration of the anterior horns of the spinal cord)، هزال وضمور عضلي، مميت غالباً في سن العشرين أوما قبل.
بِيلَةُ الفينيل كيتون (Phenylketonuria)	10000 / 1	عوز في الإنزيم الكبدي فنيل ألانين هيدروكسيلاز (Phenylalanine hydroxylase)، ضرر دماغي، تَخَلُّفٌ عَقْلِيّ (Mental retardation)، تراكم الفنيل ألانين في الدم.
الثَلاَسيمِيَّة بيتا	20000 / 1	نفاد وخيم لكريات الدم الحمراء أوفَقْرُ الدَّم

(b-Thalassemia)		(Anemia)، ضخامة طحال، تشوهات عظمية.
عوز إنزيم الغالاكتوكيناز (Galactokinase deficiency)	40000 / 1	عدم مقدرة على تحمل الغالاكتوز، ساد، تخلف عقلي خفيف.
عوز ضِد التريبْسين ألفا واحد (a 1 –Antitrypsin deficiency)	3500 / 1	عُسْرُ التَّنفُّس (Breathlessness)، نُفاخ (Emphysema)، تشمع (Cirrhosis) الكبد.

لا يعد تفسير حالة الوراثة الجسدية المتنحية موثوقاً بالاعتماد على شجرة نسبٍ واحدةٍ. فإذا ما كان الأليل المَعيب في هذه الحالة ذا تكرارية عاليةٍ فهناك احتمال كبيرٌ لأن يتزوج فرد متماثل الألائل مصاب (إذ يكون كلا الأليلين معيبين) مع فرد متخالف الألائل (أي أليل طبيعي والآخر معاب) مما قد يخلط هذه الحالة مع حالة وراثة جسدية سائدة (**شكل 1-12**)، لذا فمن الأنسب لدى تفحص نمط وراثة خلة ما جمع البيانات من عائلات عدة يحملون الخلة نفسها.



(شكل 1-12) شجرة نسب لحالة وراثة جسدية سائدة كاذبة.

3.7.1. الوراثة المرتبطة بالصبغي X (X-Linked Inheritance)

تحمل نصف النطاف لدى رجل كامل الخصوبة الصبغي X فيما يحمل نصفها الثاني الصبغي Y. أما البيضة غير المخصبة فتحمل كلها الصبغي X. ومن ثم نظرياً سينجم عن التزاوج مواليد نصفهم من الإناث ونصفهم من الذكور. تعد هجرة الصبغيات المحددة للجنس خلال الانقسام الانتصافي أساسية في الحفاظ على معدل الجنس بنسبة 1 : 1 من جيل إلى آخر. وهكذا يرث كل الذكور الصبغي Y من آبائهم الذي يحمل الجين SRY (Sex determining region of the Y chromosome) في الموقع Yp11.3 الضرورية لتشكيل الخصى.

لا تتشارك الصبغيات المحددة للجنس بالمواد الصبغية فيما بينها فيما عدا عدة شدف يطلق عليها المناطق الجسدية الكاذبة (Pseudoautosomal). يحدث في هذه المناطق الجسدية الكاذبة كل من عمليتي التشابك (Synapsis) والتعابر (Crossing over) بين الصبغيين X وY. يؤمن هذا التشابك ما بين الصبغيين X وY هجرتهما بشكل دقيق خلال الانقسام الانتصافي.

تم تحديد موقع نحو 23 جيناً في القسم غير الجسدي الكاذب (Non-pseudoautosomal portion) من الصبغي Y. تدعى هذه الجينات بالجينات المُقْتَصِرَة على الذُكُور (Holandric genes). أما الجينات الموجودة على الصبغي X فهي معروفةٌ بشكلٍ جيد إذ تم تحديد أكثر من 285 جيناً تحدث فيها اضطرابات يظهر بعضها في **الجدول 1-5**.

إن وجود أليل واحد مرتبط بالصبغي X كافٍ لظهور النمط الظاهري لدى الذكور بسبب وجود القليل من المعلومات الجينية المتماثلة ما بين الصبغيين X وY. ومن ثم لا توجد فرصة حقيقية لأن يقوم أليل طبيعي سائد بتغطية تأثير الأليل المتنحي. وعلى العكس من ذلك لدى الإناث يمكن أن يتحدد تأثير الأليل إن كان سائداً أومتنحياً بحسب النمط الظاهري بسبب وجود صبغيين X.

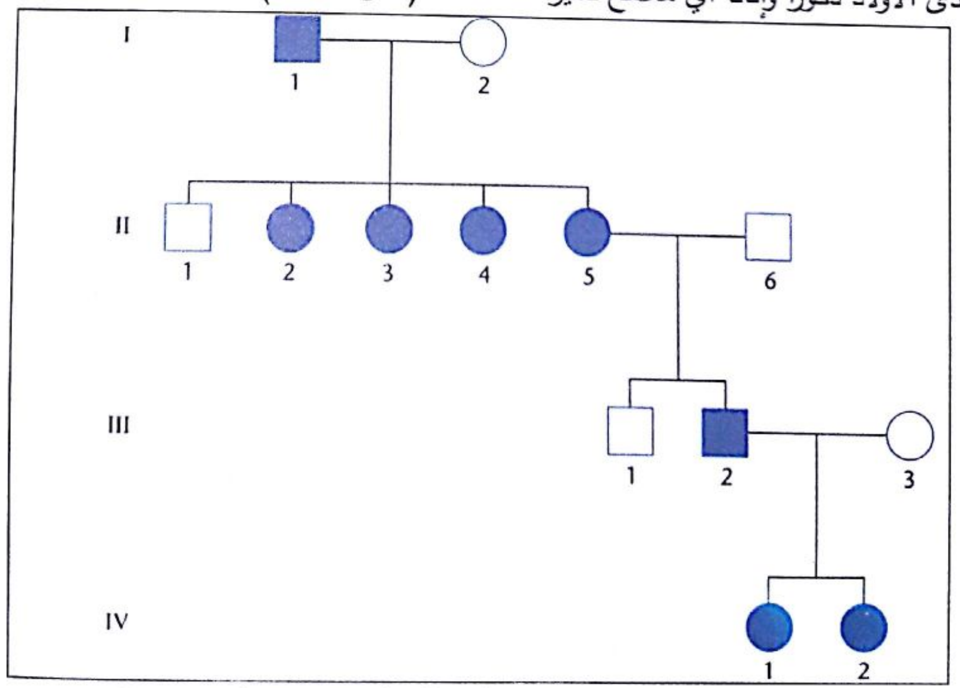
يؤدي وجود أليل سائد مرتبط بالصبغي X في شجرة نسب إلى ظهور النمط الظاهري المرتبط بوجود هذا الأليل لدى الذكور والإناث (**شكل 1-13**).

(جدول 1-5) بعض الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X لدى الإنسان.

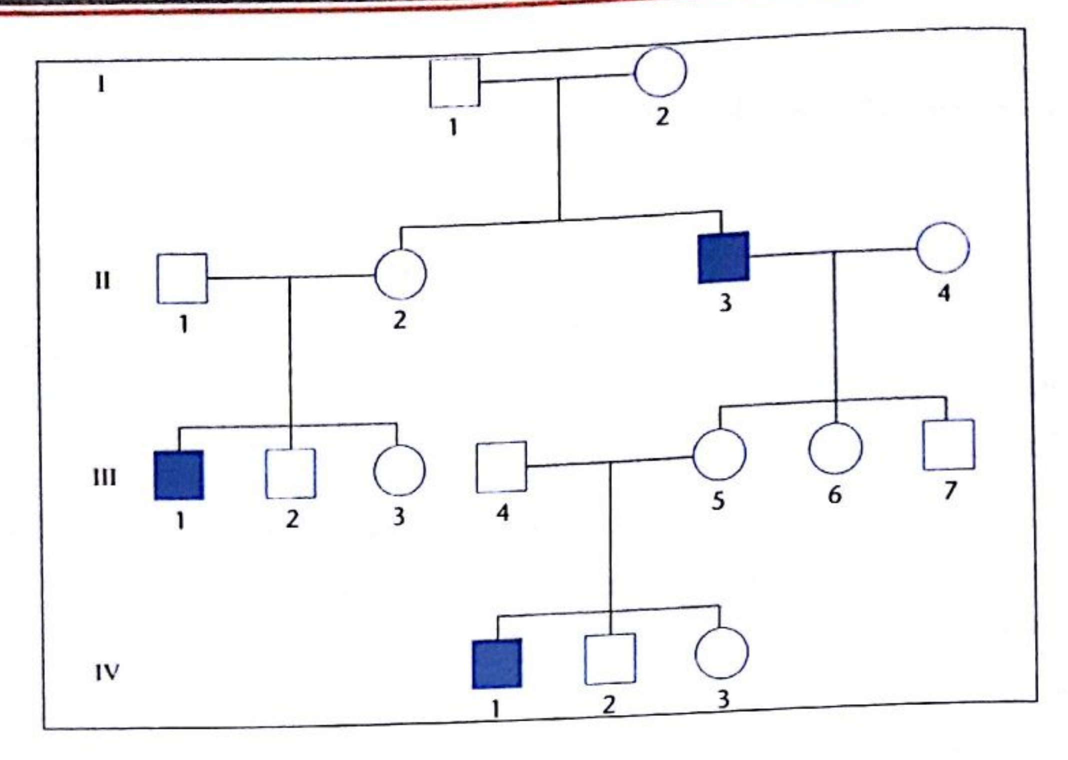
الاضطراب (Disorder)	الانتشار (Prevalence)	الوصف (Description)
الحَثَل العضلي مِنْ نَمَطِ دوشين (Duchenne muscular dystrophy)	ذكور 1/ 3500 إناث نادر	بدء مبكر، ضعف عضلي متدرج، تنكس وخيم في العضلات الهيكلية.
متلازمة الصبغي X الهش (Fragile X syndrome)	ذكور 1/ 1500 إناث 1/ 2500	تأخر عقلي، طول في الرأس، بروز في الفك والجبهة، أذنان طويلتان، تقلقل مفاصل (Loose joints)، ضخامة في الخصيتين (Macroorchidism) عند الذكر.
حَثَلُ الكُظْر وبَيْضَاءِ الدِّمَاغ (Adrenoleukodystrophy)	ذكور 1/ 20000 إناث نادر جداً	بدء متغير للاعتلال، خرف متدرج، اضطرابات عقلية وعصبية، شَلل تَشَنُّجِيّ (Spastic paralysis)، قُصور قِشْرَة الكُظْر (Adrenocortical insufficiency).
النَّاعورُ A (Hemophilia A)	ذكور 1/ 5000 إناث نادر	عوز في العامل الثامن لتخثر الدم (Clotting factor VIII)، نزف مفرط بسبب الرضوح

		الصغيرة، نزف داخلي. (Traumas)
مُتلازِمَةُ ليش-نيهان (Lesch-Nyhan)	ذكور 1/ 10000 إناث نادر	عوز إنزيم HGPRT (hypoxanthine-guanine phosphotransferase)، تأخر عقلي، تَشَنُّجات عَضَلِيَّة (Muscular spasms)، تشويه ذاتي (Self-mutilation).
مُتَلاَزِمَةُ آلبورت (Alport syndrome)	ذكور 1/ 5000 إناث نادر	عيب في السلسلة α5 من الكولاجين ذي النمط الرابع، تغاير سريري، تنكس متدرج في الكلى، صمم، عيوب في الرؤية.
عيوب الرُؤْيَة اللَّونِيَّة (Color vision defects)	ذكور 8/ 100 إناث 1/ 100	عوز في رؤية اللون الأحمر أوالأخضر أوكليهما.
سُماك (Ichthyosis)	ذكور 1/ 6000 إناث نادر	عوز في إنزيم الستيروئيد سلفاتاز (Steroid sulfatase)، جُفاف (Dryness) الجلد، منظر الجلد يشبه جلد السمكة.
نَقْصُ فُسْفاتِ الدَّم (Hypophosphatemia)	ذكور 1/ 20000 إناث نادر	عوز الفوسفات، تَلَيُّن عظام، تأخر نمو، تشوهات هيكلية، عدم استجابة للمعالجة بالفيتامين D.
داءُ نوري (ضُمورُ المُقْلَةِ الوِراثي) (Norrie disease)	ذكور نادر إناث نادر جداً	عمى منذ الولادة بسبب تكاثر غير طبيعي لأنسجة الشبكية، ظهور متأخر للصمم، تخلف عقلي.

وأما في حالة وجود خلة متنحية مرتبطة بالصبغي X فإننا نلاحظ في شجرة النسب أن كل الذكور لأم تحمل خلة ما يبدون النمط الظاهري المرتبط بوجود تلك الخلة. وإذا ما كان الأب يحمل تلك الخلة فلا يظهر لدى الأولاد ذكوراً وإناثاً أي ملامح تشير لتلك الخلة **(شكل 1-14)**.



(شكل 1-13) شجرة نسب تمثل حالة وراثة خلة سائدة مرتبطة بالصبغي X.



(شكل 1-14) شجرة نسب تمثل حالة وراثة خلة متنحية مرتبطة بالصبغي X

8.1. التأثيرات البيئية Environmental influences

إن العامل النهائي الذي يحدد النمط الشكلي هو النمط الجيني الذي يتحدد عند الإلقاح، ولكن الدرجة التي يسمح فيها لهذه المقدرة الجينية الكامنة في التعبير عن نفسها تتأثر لدرجة كبيرة بالعوامل البيئية المحيطة بالمتعضية مثل درجة الحرارة ونمط التغذية. على سبيل المثال، يكون لون الفراء في أرنب الهيمالايا أبيضاً في بعض أجزاء الجسم وأسوداً في أجزاء أخرى، وقد لوحظ أن درجة الحرارة في مناطق الفراء الأبيض نحو33 م وفي مناطق الفراء الأسود أقل من 33 م وبالتجربة تبين أن حلق الفراء الأبيض ووضع قطعة جليد مكانها يؤدي إلى نمو فراء أسود اللون مما يدل على أن جين الفراء الأسود تعبر عن نفسها عندما تكون درجة الحرارة أقل من 33 م. كما أن لون الزهرة في نبات Hydrangea يكون أزرق عندما ينمو في تربة حامضية ووردياً عندما ينموالنبات في تربة قلوية، مما يدل على أنّ أيّ نقص في إمداد هذه العوامل المحددة سيمنع الجين المسؤولة عن الطول أولون الزهرة من ممارسة تأثيرها الكامل، أي إنّ كلاً من الوراثة والبيئة يؤثران في المظهر الشكلي للخلة كما يمكن وصف التنوع الشكلي المستمر أنه المفعول التراكمي لعوامل بيئية متنوعة تفعّل نمطاً جينياً قابلاً للتنوع.

في تطور صفات بشرية مثل الشخصية والذكاء والمزاج هناك دليل على أن كلاً من العوامل الجينية والبيئية هي التي تُفعّل إنتاج فروق نمطية شكلية بين الأفراد، إلا أنه لا يوجد حتى الآن دليل قاطع على

وجود عامل أكثر تأثيراً من الآخر بشكل عام، لكن لا تستطيع البيئة مطلقاً زيادة مدى النمط الشكلي إلى أبعد مما هومحدد له في النمط الجيني.

9.1. الانتفاذ Penetrance والتعبّر Expressivity

لقد لوحظ أنّ هناك أفراداً يملكون الأنماط الجينية نفسها، ولكن لا يبدون النمط الظاهري نفسه، ويعتقد أن سبب ذلك يعود إلى فروقٍ في شروط الوسط المحيط أومحيط الجينات نفسها. تسمّى "مقدرة جين ما أو مجموعة جينات مسؤولة عن ظهور صفة ما على التعبير عن نفسها في نمط ظاهري بالانتفاذ. مثلاً في زيادة عدد الأصابع عند الإنسان (العَنَش) Polydactyl، تنتج الحالة الطبيعية لعدد الأصابع عن وجود النمط الجيني المتنحي متماثل اللواقح (*pp*)، أما صفة زيادة عدد الأصابع فتعود إلى جين جسمية سائدة، ولكن لوحظ أنّ بعض الأفراد ذوي النمط الجيني (*Pp*) لا يُظهرون حالة الإصبع الزائدة أي أن الجين لم تنفذ لديهم. يمكن لجين ما رغم انتفاذها أن تعبر عن نفسها بدرجات مختلفة، ويدعى التعبير الناتج عن نمط جيني نافذ" باسم التعبّر. في المثال السابق يمكن أن يكون النمط الجيني السائد نافذاً في أحد اليدين أوالقدمين أوفي الأيدي دون الأقدام. من جهة أخرى الجينات المميتة المتنحية قد تكون غير مميتة عندما يكون انتفاذ وتعبّر النمط الجيني متماثل اللواقح غير تامة، وتسمى عندها الجينات تحت المميتة Sublethal.

الفصل الثاني

الوراثة اللامندلية

Non-Mendelian Inheritance

المحتويات Contents

تبيّن لكلٍّ من العالمين RA Fisher و DS Falconer عام 1918 أن الكثير من الخلّات محكومةٌ كل واحدة منها بعدة جينات. أثبتت دراسات عديدة لاحقة أن قلّةً من الأمراض الوراثية لدى الإنسان تتبع قانون الوراثة المندلية أي كل خلّة محكومة بجين واحدة، وأن إثبات العلاقة ما بين النمط الجيني والنمط الظاهري ليس بالأمر السهل. يُطلق على الخلّة التي تتحكم بظهورها جين واحدة بالوِراثَة المَنْدِلِيَّة (Mendelian inheritance) أو الوِرَاثَة وَحِيْدَة الصِّبْغِي (Monogenic inheritance)، وهوما درسناه في الفصل الأول من الكتاب و أفضل مثال عنها الزمر الدموية. أما الخلّة التي يتحكم بظهورها عدة جينات فتُدعى بالوِراثَة عَديدَة الجينات (Polygenic inheritance). يطلق على الوِرَاثَة وَحِيْدَة الصِّبْغِي أو الوِراثَة عَديدَة الجينات اسم الوِراثَة عَديدَة العَوامِل (Multifactorial inheritance) إذا ما تضافرت في ظهور الخلّة كلٌّ من العوامل الجينية والعوامل البيئية (Environmental factors).

1.2. الوِراثَة عَديدَة الجينات (Polygenic inheritance):

يُقصد بها الخلّة التي يتحكم بها الكثير من الجينات الواقعة في مواضع مختلفة دون أن تؤثر فيها العوامل البيئية. هذا النوع من الوِرَاثَة نادرٌ جداً، مثال عنها لون العيون. هنا يكون تأثير الجينات تراكمياً وهو ما يُشار إليه أحياناً بالوِراثَة الكَمِّيَّة (Quantitative inheritance)، حيث تسهم كل جين بجزء من ظهور الخلّة. تتوضع الجين *OCA2* المسؤولة عن اصطناع الميلانين (Melanin) على الصبغي 15 (OMIM 611409) ، ويسبب غيابها المهق (Albinism). وتعطي الألائل المتنحية من الجين *OCA2* لون العيون الزرقاء في حين تعطي الألائل السائدة منها لون العيون البنية. تتوضع على الصبغي 15 وبالقرب من الجين *OCA2* جين أخرى تؤثر في تعبيرها تدعى *HERC2*. تعيق الألائل المتنحية للجين *HERC2* تأثير الجين *OCA2* مما يؤدي إلى ظهور العيون الزرقاء(**شكل 2 – 1**).









(شكل 2-1): تؤثر جينتان على الأقل في لون العيون هما *OCA2* و*HERC2*. تتوضع هاتان الجينتان بعضهما قرب بعض على الصبغي الخامس عشر.

2.2. الوِراثَة عَديدَة العَوامِل (Multifactorial inheritance):

يطلق على هذا النوع من الوراثة أحياناً بالوراثة المعقدة، ولكن تعدّ تسمية الوِراثَة عَديدَة العَوامِل أكثر دقةً. تستخدم عبارة الوِراثَة عَديدَة العَوامِل في أغلب الأحيان لوصف خلّات تتحكم بها عدة جينات بالإضافة لتأثير العوامل البيئية. ليست الجينات في هذا النوع من الوراثة بالأكثر تعقيداً من الجينات الأخرى، لا بل تتبع كل جين من الجينات قوانين ماندل في الوراثة. والفرق هو تضافر عدة جينات بعضها مع بعض بالإضافة للعوامل البيئية لإعطاء نمط ظاهري معين مع غياب لملامح السيادة والتنحي. للتوضيح نذكر سرطان الرئة (Lung cancer) الذي تتضافر في ظهوره جينات مع العوامل البيئية . وبفرض أن شخصاً لديه العوامل الجينية المؤهبة لظهور السرطان ولكنه ليس بمدخن ويستنشق الهواء النقي طوال حياته فإنه من النادر أن يظهر لديه سرطان الرئة. تكون تأثيرات الجينات هنا تراكمية أيضاً، إذ تسهم كل جين بجزءٍ من النمط الظاهري النهائي، وهذه المساهمة ليست بالضرورة أن تكون متساوية. ومثال على ذلك حالة السُكَّرِيّ من النمط الثاني (Type II diabetes) إذ تسهم بضع جينات بشكلٍ كبيرٍ في تطور المرض أما باقي الجينات فتكون مساهمتها ضئيلة. وفي مثال آخر عن الشَّقيقَة أو ما يسمى بالصُداع النِّصْفِيّ (Migraine)، تسهم جين تقع على الصبغي الأول في الحَسَاسِيَّة تجاه الصوت (Sensitivity to sound) في حين أن جين أخرى تقع على الصبغي الخامس تؤدي إلى الصداع النابض (Pulsating headache) ، في الحساسية تجاه الضوء (Sensitivity to [illegible])، وهناك جين ثالثة على الصبغي الثامن تؤدي إلى الغَثَيان والإقياء (Nausea and vomiting).

وهناك خلّات أخرى تخضع لنمط الوِراثَة عَديدَة العَوامِل مثل الطول ولون الجلد والوزن والخَلّات السُلوكِيَّة (Behavioral traits) والكثير من الأمراض. يمكن أن تكون الخلّة ذات نمط ظاهري محدد، وتُسمى متقطعة (Discontinuous) مثل الداء السكري من النمط الثاني. وقد لا تعبِّر عدة جينات تتحكم بخلّة واحدة عن نمطٍ ظاهريٍ مميزٍ، وإنما تعبِّر عن تدرجات مختلفة من النمط الظاهري وهو ما يطلق عليه مسمى التنوع المتواصل للنمط الظاهري (Continuously varying phenotype) مثال عنها طِراز البَصمَة والطول والذكاء. تكون نسبة حدوث الخلّات متعددة العوامل المتقطّعة في العائلات المصابة أعلى منها عادةً مقارنة بالمجتمع السكاني، وتتدنى نسبة حدوثها كلّما أصبحت القرابة بعيدةً بين أفراد العائلة لتصل إلى مستويات قريبةٍ من نسبة حدوثها لدى السكان.

1.2.2. طِرازُ البَصْمَة (Fingerprint pattern):

ما يحدد طِرازُ البَصْمَة هوانثناءات الجلد على أطراف الأصابع في أنماط بارزة تُدعى بحُروف جِلْدِيَّة (Dermal ridges). ترتصف هذه الحروف لتشكيل عُرى (Loops) أو دُوَّارَات (Whorls) أو أقواسٍ (Arches). تستخدم تقنية دِراسَةُ تَقَاطِيْعِ النِّهَايَاتِ (Dermatoglyphics) المحددة لطِرازِ البَصْمَة في مقارنة وتمييز الأفراد بعضهم من بعض وفي التحاليل الطِّبية الشَّرْعِيَّة (Forensic analysis). تتحكم الجينات بشكلٍ كبير في عدد الحروف في البصمة وقد تشاركها العوامل البيئية في ذلك. تتغير البصمة أثناء الحمل (بين الأسابيع 6 و13)، وذلك بسبب ملامسة أصابع الجنين للكيس السَّلَوِيّ (Amniotic sac). وهوما يفسر عدم تطابق البصمة بين التَوءمينِ المُتَماثِلين (Identical twins) رغم تطابق جيناتهما تطابقاً كاملاً.

2.2.2. الطول (Height):

يبدوتأثير العوامل البيئية في وراثة الطول أكثر وضوحاً. فالأفراد الذين لا يتغذون بشكلٍ جيدٍ لا يصلون إلى قاماتٍ طويلةٍ رغم امتلاكهم للعوامل الجينية المؤهبة لذلك. لدى إجراء مقارنة بين أفراد جيلين الأول عاش في 1920 والثاني في أيامنا فقد وُجد أن متوسط الطول كان 150 سم في جيل 1920 و 165 سم في الجيل الآخر. وهذا يعود إلى تحسن الشروط الصحية ونوعية الغذاء. يُذكر هنا أن نحو50 جين تتحكم بخلة الطول.

3.2.2. الوزن (Weight):

يُعد وزن الجسم من الخلاّت متعددة العوامل التي تتحكم فيها جينات عدة تؤثر في الشهية (appetites) وعوامل بيئية تتعلق بكمية الطعام ونوعيته إضافة إلى النشاط الفيزيائي للفرد والحالة النفسية، ويُظهر **(الجدول 2–1)** البروتينات المصنّعة في الجسم التي تؤثر في الشهية.



Protein	OMIM	Effect on Appetite
Leptin	164160	↓
Leptin transporter	601694	↓
Leptin receptor	601007	↓
Neuropeptide Y	162640	↑
Melanocortin-4 receptor	155541	↓
Ghrelin	605353	↑
PYY	660781	↓
Stearoyl-CoA desaturase-1	604031	↑

(الجدول 2–1): البروتينات المصنّعة في الجسم التي تزيد (↑) أوتُنقِص (↓) من الشهية، والرمز الخاص بهذه البروتينات لمن أراد المزيد من المعلومات يمكنه البحث عنها في موقع OMIM على الشابكة.

3.2 . الطرق المتّبعة للتحقق من الخَلّات متعددة العوامل
(Methods to Investigate Multifactorial Traits)

يحتاج إثبات خضوع الصفات إلى الوراثة متعددة العوامل إلى اتباع إستراتيجيات مغايرة مثل الاخْتِطار التَجْرِيْبِيّ ودراسات التوافق عند التوائم ودراسات الترابط العائلي.

1.3.2. الاخْتِطارُ التَجْرِيْبِيّ (Empiric Risk):

الاخْتِطار التَجْرِيْبِيّ ليس بالحساب الرياضي وإنّما إحصاء يعتمد على ملاحظات علماء الوراثة (Geneticists) لتوقع نسبة حدوث خلّة متعددة العوامل لدى شخص ما. يشير مصطلح مُعَدَّل الوُقُوْع (Incidence rate) إلى عدد الحالات الجديدة من الاضطرابات المُشخّصة المُسجّلة كل عام في مجتمع سكاني ذي حجم معلوم. ويشير مصطلح مُعَدَّل الانْتِشار (Prevalence rate) إلى عدد الأفراد ضمن مجتمع سكاني الذين يملكون اضطراباً ما خلال فترة محددة من الزمن. يزداد الاخْتِطار التَجْرِيْبِيّ كلما ازدادت القرابة بين الأفراد ضمن العائلة الواحدة، كما بيّنت دراسة أجريت حول الشَّفَة المَشْقُوْقَة (Cleft lip) **(جدول 2– 2)**.

يُعمل بالاخْتِطار التَجْرِيْبِيّ لدى دراسة الاضطرابات متعددة العوامل التي تفتقر للمعلومات حول سبب حدوثها أو طريقة انتقالها أو التي تصيب أحد الجنسين أكثر من الآخر. مثل تَضَيُّق البَوَّاب (Pyloric stenosis) الذي يصيب الذكور بمعدل خمس مرات أكثر من الإناث.

Relationship to Affected Person	Empiric Risk of Recurrence
Identical twin	40.0%
Sibling	4.1%
Child	3.5%
Niece/nephew	0.8%
First cousin	0.3%
General population risk (no affected relatives)	0.1%

(جدول 2− 2): الاخْتِطار التَجْرِيْبِيّ لظهور شفةٍ مشقوقةٍ لدى أقارب وفي المجتمع السكاني. توءمان متماثلان (Identical twin)، شقيق (Sibling)، طفل (Child)، بنات وأبناء الأخ والأخوات (Niece/nephew)، أولاد عم درجة أولى (First cousin).

2.3.2. قابلِيَّةُ الانْتِقَالِ بالوِرَاثَةِ (Heritability)

قابلِيَّةُ الانتِقَالِ بالوِرَاثَةِ تعني تقدير نسبة تنوّع النمط الظاهري لخلّة ما بسبب اختلافات جينية، وذلك في مجتمع سكاني ما ضمن فترة زمنية محددة. تختلف قابلِيَّةُ الانْتِقَالِ بالوِرَاثَةِ عن الاخْتِطار التَجْرِيْبِيّ أنها تركّز على الاختلافات الجينية كسبب للتنوع بينما الاختطار قد ينجم عن تأثيرات بيئية. يُعزى التّنوع الجيني في الخلّة متعددة الجينات في معظم الحالات إلى تراكم تأثير ألائل متنحية لجينات مختلفة. وقد تؤثر ثلّةٌ من الألائل السائدة في النمط الظاهري لبعض الخلّات، ولكن بسبب ندرة هذه الألائل السائدة فإنها لا تسهم بشكلٍ كبيرٍ في قابلِيَّةِ الانْتِقَالِ بالوِرَاثَةِ. يمكن أن تتأثر قابلِيَّةُ الانْتِقَالِ بالوِرَاثَةِ بالرَوكَبَة (Epistasis)، ويُقصد بها التفاعل ما بين ألائل لجينات مختلفة. لا يعد تحديد قابلِيَّة الانْتِقَالِ بالوِرَاثَةِ من المهام سهلة المتابعة لدى الإنسان بسبب صعوبة تثبيت وتحييد تأثير العوامل البيئية. وتغدو هذه المهمة أسهل لدى النباتات والحيوانات بسبب القدرة على تثبيت الشروط البيئية وتحييدها. ولتحديد فيما إذا كانت العوامل الجينية وحدها دون البيئية هي من يسهم في تنوع خلات ما درست حالات التبني والتوائم.

3.3.2. التبني (Adoption):

يتشارك الشخص المُتبَنى العوامل البيئية دون الجينية مع العائلة المُتبنِّية. فيما يتشارك الشخص المُتبَنى العوامل الجينية دون البيئية مع الوالدين البيولوجيين (Biological parents). يُقصد بالوالدين البيولوجيين الأب الذي أتت منه النطفة والأم صاحبة البويضة غير المخصّبة. يفترض علماء الوراثة أن التشابه الملاحظ إذا ما وجد بين الشخص المُتبَنى والعائلة المُتبَنِّية مردّه إلى العوامل البيئية، وأن التشابه الملاحظ إذا ما وجد بين الشخص المُتبَنى والوالدين البيولوجيين مردّه إلى العوامل الجينية. أجريت دراسة على الوالدين البيولوجيين والوالدين المُتَبَنّيين (Adoptive parents) والأولاد المُتَبَنّيَن (Adopted children) لمعرفة مدى تأثير كل من العوامل الجينية والبيئية. تناولت الدراسة الموت قبل سن الخمسين بسبب أمراض خمجيّة (Infectious disease) أو بسبب أمراض قلبية وعائية (cardiovascular disease). لوحظ أن موت الوالدين البيولوجيين قبل سن الخمسين لأسباب خمجية يزيد من معدل موت الأولاد المُتَبَنَّين قبل سن الخمسين بخمس مرات مقارنةً مع المجتمع السكاني. هنا يظهر جلياً مدى تأثير العوامل الجينية، والتفسير هووجود تغيرات في جينات الجهاز المناعي تجعل هؤلاء الأفراد أكثر استِعْداداً (Susceptibility) للإصابة بالأخماج. لوحظ أيضاً أن موت الوالدين المُتبنِيين قبل سن الخمسين بأمراض قلبية وعائية يزيد من معدل موت الأولاد المُتَبَنَّين قبل سن الخمسين بثلاث مرات مقارنةً مع المجتمع السكاني. هنا يظهر جلياً مدى تأثير العوامل البيئية.

4.3.2. التوائم (Twins):

التوائم نوعان متماثلة (Identical twins) أو أخوان (Fraternal Twins). تنشأ التوائم المتماثلة عن زيجوت واحدةٍ انقسمت إلى مضغتين، لذا تُسمى وحيدة الزيجوت (monozygotics) واختصاراً MZ. فيما ينشأ التوائم الأخوان عن لاقحتين مختلفتين نتيجة تلقيح بويضتين بنطفتين، لذا تُسمى ثنائية الزيجوت (Dizygotics) واختصاراً DZ. تكون التوائم أحادية الزيجوت متماثلة جينياً، أما التوائم ثنائية الزيجوت فتشترك بنصف جيناتها، وبالتالي يكون التوءمان من الناحية الوراثية متشابهين تشابه الأخوة والأخوات. يزداد معدل حدوث التوءمة ثنائية الزيجوت مع زيادة عمر الأم ومع زيادة عدد مرات الحمل وقصة حدوث توءمة في العائلة، كما أنّها قد تترافق مع النساء الطويلات ذوات البنى الضخمة.

درس علماء الوراثة معدلات التواؤم (Concordance rates) والخلّات المشتركة. وقد لُوحظ أنه في حال كانت الخلّة محكومةً بجين واحدة فإن نسبة ظهورها عند التوائم المتماثلة تبلغ 100% إذا ما كانت سائدة، وينخفض معدل ظهورها إلى 50% بين التوائم الأخوة، وهو ما يحاكي الوراثة المندلية. أما إذا ما كانت الخلّة محكومةً بعدة جينات فإن معدلاتها بين التوائم المتماثلة أعلى بشكل واضح من ذلك المُشاهد بين التوائم الأخوة (**جدول 2-3**). أظهرت دراسة أخرى أجريت على توائم متماثلة تم الفصل بينهم منذ الولادة لأسباب مختلفة أن معدلات التواؤم كانت عالية بالرغم من الظروف المختلفة التي عاشها كل من

التوءمين وهو ما يؤكد الأثر الجيني الكبير مقارنةً بالبيئي. تم في هذه الدراسة مقايسات عدة لمعالم حيوية في الدم ومقارنة متثابتات (Parameters) فيزيائية ونفسية مختلفة ما بين التوائم.

Trait	MZ (Identical) Twins	DZ (Fraternal) Twins
Acne	14%	14%
Alzheimer disease	78%	39%
Anorexia nervosa	55%	7%
Autism	90%	4.5%
Bipolar disorder	33–80%	0–8%
Cleft lip with or without cleft palate	40%	3–6%
Hypertension	62%	48%
Schizophrenia	40–50%	10%

(جدول 2-3): معدلات التواؤم ما بين التوائم بالنسبة لبعض الخلّات المدروسة. عُدّ أوحَبُ الشَّباب (Acne)، فَقْدُ الشَّهِيَّةِ العُصابيّ أوقَهَمٌ عُصابيّ (Anorexia nervosa)، ذَاتَوِيَّة (Autism)، اضطِرابٌ ذواتِّجاهَين (Bipolar disorder)، الشَّفَةُ المَشْقُوقَة بدون حَنَك مَشْقوق (Cleft lip with or without cleft palate)، فَرْطُ ضَغْطِ الدَّم (Hypertension)، انفصام عقلي أوفُصَام (Schizophrenia).

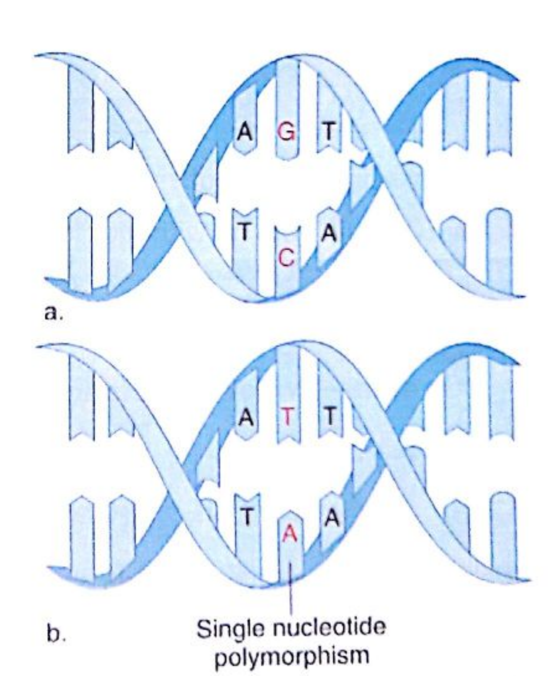
5.3.2. دراسات الارتباط الواسع للمجين (Genome-Wide Association Studies)

إن دراسة الارتباط الواسع للمجين واختصارها GWAS هي طريقة جديدة لتحليل الخلات. تعتمد هذه الطريقة على مقارنة واصمات جينية (Genetic markers) في كامل المجين، وذلك بين مجموعتين كبيرتين من الأفراد، الأولى لديها خلّة محددة أومرض ما، والثانية خالية من تلك الخلّة أو المرض. أما الواصمات الجينية فهي:

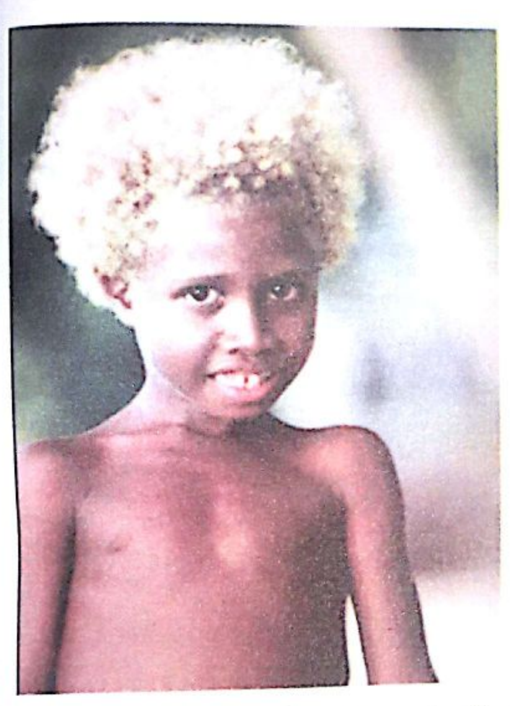
- التعدد الشكلي وحيد النوكليوتيد (Single nucleotide polymorphism) واختصاراً SNP هو تغيّر في شفع واحد من الأسس ضمن تسلسل ما، وهذا التغيّر موجود لدى 1% على الأقل من السكان (**شكل 2 -2**). يُجرى سلسلة (Sequencing) لكامل المجين لكلٍّ من مجموعة أسوياء ومجموعة أفراد لديهم الاعتلال نفسه لاكتشاف SNPs. تقارن بعدها SNPs المكتشفة بين المجموعتين، وتحدد تلك المشتركة ما بين الأفراد المرضى. فقد يكون أحد هذه SNPs أو بضعة منها على علاقة بالاعتلال، أو أنها قريبةٌ من الجين أو الجينات المسؤولة عن الاعتلال والتي يطلق عليها اسم الجينات المرشحة (Candidate genes). أجريت دراسة على مجموعة من سكان جزر Solomon الاستوائية لمعرفة سبب ظهور الشعر الأشقر عند بعض السكان (**شكل2**

-3). تمّت مقارنة 43 شخصاً يملك شعراً أشقر و42 آخرين يملكون شعراً أسود. وُجد أن ذوي الشعر الأشقر يملكون SNP على الصبغي التاسع ضمن جين تُدعى *TYRP1* (tyrosine-relatedprotein 1). ويتحكم منتج هذه الجين بالميلانين ومن ثم تؤدي الطفرة في هذه الجين إلى أحد أنواع المهق (Albinism).

- تغيرات في عدد نسخ (Copy number variants) واختصاراً CNVs هو تسلسل من الدنا يتكرار لعدد متباين من المرات بين الأفراد المختلفين **(شكل 2- 4)**.
- التعبير الجيني (Gene expression)، وذلك لمعرفة فيما إذا كانت زيادة أو نقص التعبير عن جينات معينة لدى الأفراد هو المسؤول عن ظهور الخلّة أو الإصابة بالمرض. يرتبط مفهوم التعبير الجيني مع التَبَدُّل بالتَّخَلُّقِ المُتَوالي (Epigenetic change) الذي يؤثر في التعبير الجيني دون المساس بتسلسل الدنا.



(شكل2- 2): التعدد الشكلي وحيد النوكليوتيد (SNP).



(شكل2-3): يُعزى الشعر الأشقر عند بعض سكان جزر Solomon إلى تغيّر في شفع أسس واحد في إحدى الجينات.

GATTACA	Allele 1
GATTACAGATTACA	Allele 2
GATTACAGATTACAGATTACA	Allele 3
GATTACAGATTACAGATTACAGATTACA	Allele 4

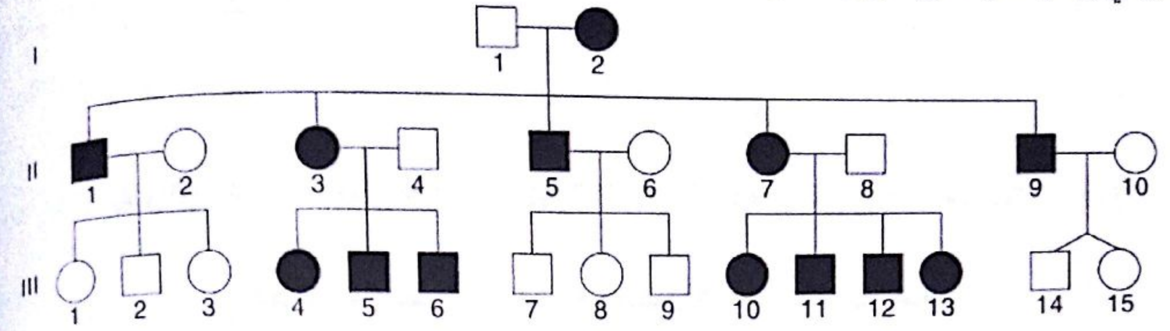
(شكل 2-4): تغيّر في عدد نسخ التسلسل GATTACA بين عدة ألائل.

4.2. اضطرابات المتقدرات (Mitochondrail disorders)

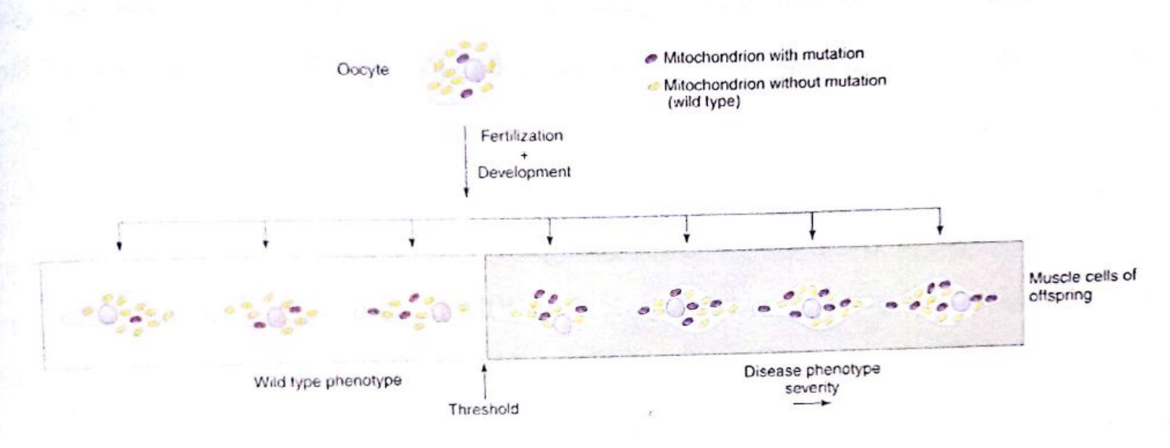
اشتق اسم المُتَقَدِّرات (mitochondria) ومفردها مُتَقَدِّرَة (Mitochondrion) من كلمتين إغريقيتين (Mito)، وتعني خيطاً، و(chondrion)، وتعني حبيبة. توجد مئات من المتقدرات في هيولى كل خلية، وتملك كل متقدرة من 2 – 10 صبغيات حلقية. تُورَّث المتقدرات وصبغياتها جميعاً من الأم ومن ثم فإن اضطرابات المتقدرات بسبب طفرات في صبغياتها تبدي طرازاً خاصاً للتوريث إذ يتم الانتقال لجميع الأولاد عن طريق الأم المصابة، ولا يوجد أي خطورة على نسل الرجل المصاب **(شكل 2-5)**.

تحوي الخَلِيَّةُ البَيْضِيَّة (oocyte) نحو100000 متقدرة، وعند نضجها ينخفض العدد ليتراوح بين 10 – 100 متقدرة بآلية سُمّيت بالاختناق الجيني (Genetic bottleneck). تسهم هذه الآلية بإزالة الكثير من المتقدرات الحاوية على تشوهات بنيوية في المجين المتقدري. يتضاعف عدد المتقدرات خلال الأيام الأولى لانقسام الخَلاَيا المُضْغِيَّة (Embryonic cells) ليصل إلى 10000 أو أكثر في كل خلية. تتوزع المتقدرات بشكل عشوائي خلال التَخَلُّق (Embryogenesis) وتشكيل الأنسجة الجنينية في الرحم. إذا ما حدث أن حملت إحدى المتقدرات طفرةً ما في مجينها، فإن المصادفة وحدها هي من ستحدد جهة توزّع هذه المتقدرات في الخلايا البنات الناتجة وفي الأنسجة. بكلام آخر قد ترث بعض الخلايا عدداً قلّ أو كثر من المتقدرات الحاملة للطفرة ومن المتقدرات الحاملة للمجين المتقدري الطبيعي، وقد لا ترث الخلايا إلّا المتقدرات الحاملة للمجين المتقدري الطبيعي. ومن ثم إذا ما كانت الغلبة للمتقدرات الطافرة على الطبيعية في بعض الأنسجة التي تحتاج في عملها إلى مستويات عالية من الطاقة تتطلب فيها عدداً كبيراً من المتقدرات مثل أنسجة العضلات والدماغ والكبد والقلب، فإن تأثير الطفرة إن كانت تؤثر في إنتاج الطاقة، سيظهر بشكلٍ جلي على وظائف تلك الأنسجة **(شكل 2-6)**. يُدعى معدل الدنا المتقدري الطافر إلى معدل الدنا المتقدري الطبيعي بحِمْل الطفرة المتقدري (Mitochondrial mutation load). يصف مصطلح الهيولى المِثْلِيَّة (Homoplasmy) الخلايا التي تحتوي المتقدرات فيها على المجين نفسه، أي إمّا كلها متقدرات سليمة وإما متقدرات حاوية على مجين فيه الطفرة نفسها. ويشير مصطلح الهيولى

المتغايرة (Heteroplasmy) إلى الخلايا التي بها نوعان من المتقدرات جزء منها حاو على المجين الطبيعي وآخر حاو على مجين طافر.



(شكل 2-5): يمثّل الوراثة المتعلقة بالمتقدرات. ينتقل المجين المتقدري من الأم إلى كل أولادها. لا ينتقل الاعتلال المتعلق بالمتقدرات من الأب المصاب إلى أولاده.



(شكل 2-6): بعد أن يحدث الإلقاح للخَلِيَّة البَيَضِيَّة ذات الهيولى المتغايرة وبعد الانقسامات المتتالية ستنتقل المتقدرات وبشكل عشوائي إلى الخلايا. إذا غلبت نسبة المتقدرات الطبيعية (Wild type) فلن يظهر المرض وسيكون النمط الظاهري طبيعاً (Wild type phenotype). وسيظهر المرض إذا تجاوزت نسبة المتقدرات الطافرة عَتَبَة ما (Threshold) بحسب النسيج الموجودة فيه. وستزداد وخامة المرض كلما زادت نسبة المتقدرات الطافرة في خلايا النسيج.

تم التعرف حتى الآن على نحو 59 طفرة في المجين المتقدري مرتبطةً باعتلالات نادرة، إذ تبلغ تكراريتها واحد من كل 10000 من المواليد الأحياء. نذكر منها على سبيل المثال الاعْتِلال العَضَلِيّ (Myopathy) واعْتِلَال عَضَلَةِ القَلْب (Cardiomyopathy) والصَمَم (Deafness) والعمى (Blindness).

ترتبط وَخامَةُ المَرَض (Severity of illness) المتعلق باعتلالات المتقدرات بعدة عوامل:

- نوع الجين الطافرة، ومكان الطفرة.
- كيفية توزّع المتقدرات الطافرة بين الأنسجة خلال مراحل الانقسام المبكرة للتطور الجنيني.

- حِمْل الطفرة المتقدري في نسيج ما اللازم لظهور الأعراض السريرية.

وبما أنّ الخلايا يمكن أن تضم نسباً متفاوتة من الدنا المتقدري السليم والطافر بعد الانقسامات الخلوية المتلاحقة خلال المرحلة الجنينية لذا سيتنوع النمط الظاهري ضمن أفراد العائلة الواحدة.

نذكر من اعتلالات المرتبطة بطفرات في مجين الممتقدرات:

- اعتلال الصرع الرَمَعِيّ العَضَلِيّ والألياف الحمراء الممزقة (Myoclonus Epilepsy and Ragged Red Fibers)

ينجم اعتلال الصرع الرَمَعِيّ العَضَلِيّ والألياف الحمراء الممزقة، ويُرمز له اختصاراً MERRF عن طفرة نقطية في الجين المُرمِّزة للرنا الناقل للحمض الأميني الليزين (RNA^{Lys}) مما يؤدي على المستوى الكيميائي الحيوي إلى عوز في إنزيمات السلسلة التنفسية. يتظاهر اعتلال MERRF بالصَرْع الرَمَعِيّ العَضَلِيّ وعدم تنسيق الحركة أوالرَّنح (ataxia) وفقد خلايا العضلات أوالاعْتِلال العَضَلِيّ (myopathy)، وتنكس في الأَعْصاب النُّخَاعِيَّة (Degeneration of spinal nerves) وغيرها من الأعراض.

- اعتلال العصب البصري لِ ليبر (Leber optic neuropathy) يرمز له اختصاراً بـ LHON.
- الاعتلال العصبي المترافق مع الرنح والْتِهابُ الشَّبَكِيَّةِ الصِّباغِيّ (Ataxia،Neuropathy ، and Retinitis Pigmentosa) يرمز له اختصاراً بـ NARP.
- الاعْتِلاَل الدِماغِيّ المتقدري المترافق مع الحُمَاض اللّاكْتيكِيّ ونوبات سكتة دماغية (Mitochondrial Encephalomyopathy with Lactic Acidosis and Stroke like Episodes)، يرمز له اختصاراً بـ MELAS.

الفصل الثالث

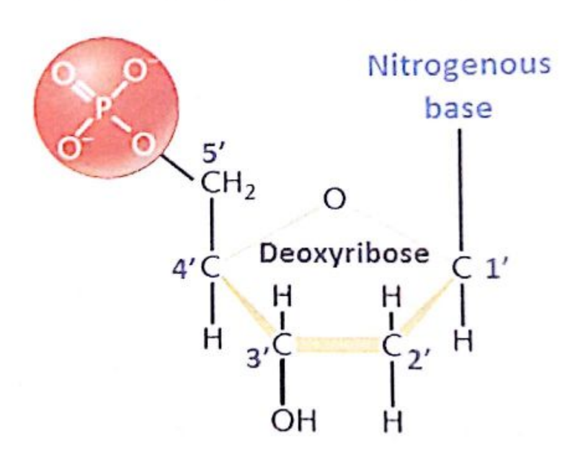
المادة الوراثية والصبغيات

Genetic Material and Chromosomes

المحتويات Contents

1.3. بنية الدنا (Structure of DNA)

بدأت دراسة كيمياء الحمـــض النــووي الريبي المنزوع الأكســـجين (Deoxyribonucleic acid) اختصاراً (DNA) منذ نهايات القرن التاسع عشر، واستمرت حتى أصبح معروفاً في الأربعينيات من القرن العشرين أن الدنا مكون من وحدات مستقلة تدعى النُوكْلِيُوتيدات (Nucleotides). يتألف كل نُوكْلِيُوتيد من أساس آزوتي (Nitrogenous base) وسكر خماسي ذرات الكربون (Pentose) وزُمْرَة فوسفات (Phosphorus group) (**شكل 3-1**). يوجد أربعة أنواعٍ من الأسس الآزوتية في بنية الدنا ثلاثة منها مشتركة ما بين الدنا والحمــض النــووي الريبي (Ribonucleic acid) اختصارا (RNA) هي: الأدِينين (Adenine) والغوانين (Guanine) والسِيتُوزين (Cytosine)، ويُستبدل الثيمين (Thymine) باليوراسيل (Uracil) في بنية الرنا. تُوَزَّع هذه الأسس الآزوتية الخمسة إلى مجموعتين، بناءً على بنيتها الكيميائية، هما البُورينات (Purines) والبِيريميدينِات (Pyrimidines) **شكل** (3-2). أما السكر الخماسي الموجود في الدنا فهو الريبوز منزوع الأكسجين (2`-deoxyribose) الذي يملك زمرة هيدروكسيل [OH] واحدة على الكربون `3 مقارنةً بالسكر الخماسي الريبوز (Ribose) الموجود في بنية الرنا الذي يملك زمرتي هيدروكسيل على الكربونين `2 و `3 (**شكل 3- 3**).



(شكل 3-1) البنية الكيميائية العامة للنُوكْلِيُوتيد. تُوضَع الفتحة على أرقام ذرات الكربون في بنية السكر لتميزها من الأرقام في الأساس الآزوتي.

Pyrimidine ring, Cytosine, Uracil, Thymine

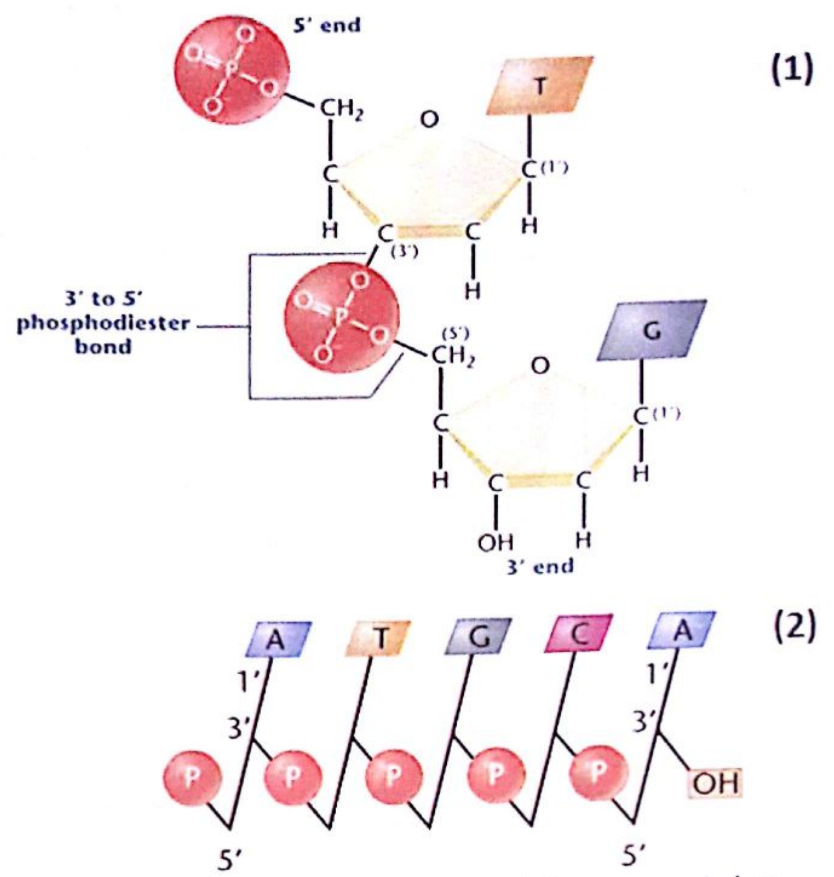
Purine ring, Guanine, Adenine

(شكل3-2) :البنية الكيميائية للأسس الآزوتية.

Ribose, 2-Deoxyribose

(شكل 3-3): البنية الكيميائية لسكر الريبوز منزوع الأوكسجين الموجود في بنية الدنا ولسكر الريبوز الموجود في بنية الرنا.

ترتبط النُوكْلِيُوتيدات بعضها مع بعض بواسطة روابط فُسْفُودايسْتِر مشكلةً سلسلةً طويلةً (Phosphodiester bonds). إذ ترتبط زمرة الفوسفات المتوضعة على الكربون `5 من النُوكْلِيُوتيد التالي مع زمرة الهيدروكسيل المتوضعة على الكربون `3 من النُوكْلِيُوتيد الأول. يملك الطاق المتشكل من عدة نُوكْلِيُوتيدات (Polynucleotide strand) نهايتين: الأولى هيدروكسيلية عند النهاية `3 (3`-end) والثانية فوسفاتية عند النهاية `5 (5`- end) **(شكل 3-4).**



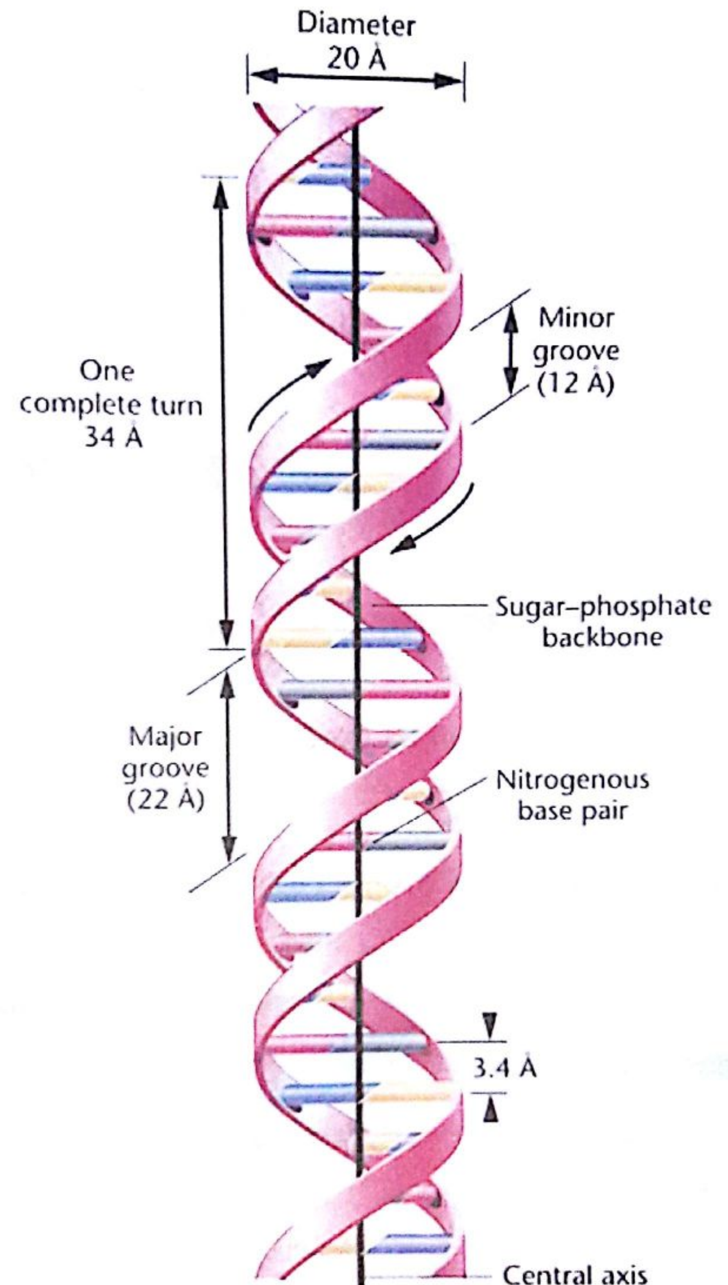
(شكل 3-4): تشكُل رابطة فُسفُودايستِر بين نُوكْلِيُوتيدين. (2) البنية الكيميائية لطاق مفرد من الدنا. A: اختصار الأدِينين، T: اختصار الثيمين، G: اختصار الغوانين، C: اختصار السِيتُوزين.

اكتشف كلٌ من الباحثين James Watson وFrancis Crick في عام 1953 بتطبيق تحليل انعراج الأشعة X على الدنا المبلور (Crystallized DNA) أن الدنا يأخذ شكل حلزون ثنائي الطاق عكسي التوازي (Antiparallel -Double-stranded helix) **شكل (3-5).**

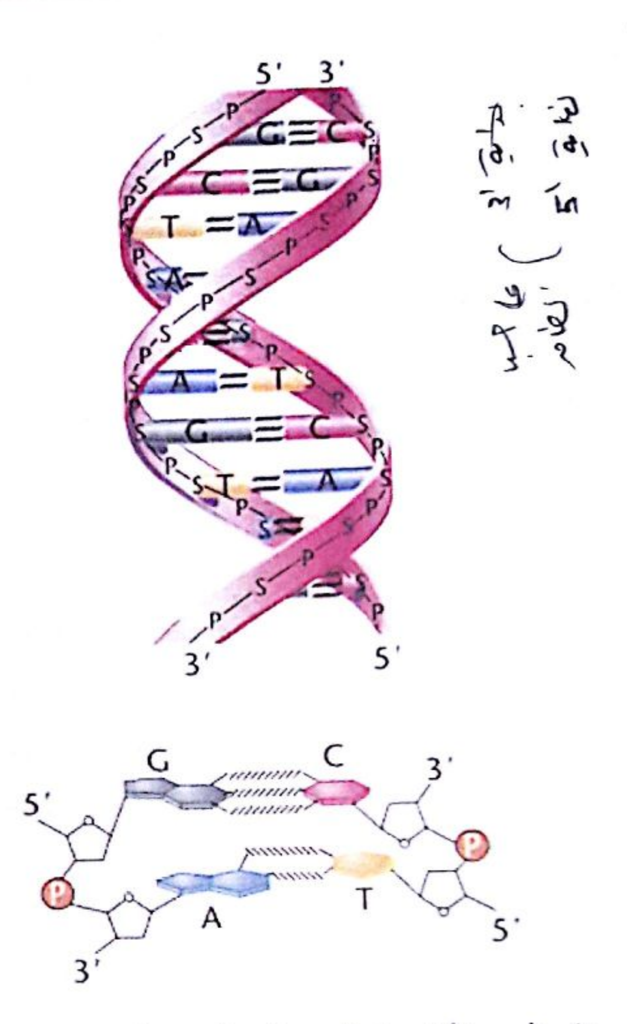
ترتبط سلسلتا عَدِيْد النوكليوتيد بعضها مع بعض بواسطة روابط هيدروجينية (Hydrogen bonds) تتشكل بين الأسس الآزوتية الموجودة في الطاقين المتعاكسين. تتشكل الروابط الهيدروجينية في مواقع محددة وما بين أسس بعينها؛ إذ يرتبط الأدنين (A) مع الثيمين (T) برابطتين هيدروجينيتين، ويرتبط السيتوزين (C) مع الغوانين (G) بثلاث روابط هيدروجينية **(شكل3-6)**. تتوضع أزواج الأسس (AT) و(CG) إلى الداخل في جزيئة الدنا، بينما تتشكل الرابطة ما بين الفوسفات والسكر الخماسي منقوص الأوكسجين بالاتجاه \`5 - \`3 العمود الفقري لكل طاق. يتقابل طاقي الدنا بشكل عَكْسِيُ التَّوَازِي (Antiparallel)، إذ تأخذ السلسلة الأولى الاتجاه \`3 - \`5، وتأخذ السلسلة الثانية الاتجاه \`5 - \`3 **(شكل3-6).**

اتفق اصطلاحياً عندما يكتب تسلسل الدنا بشكلٍ أفقيٍ أن تكتب النهاية `5 للطاق العلوي على يسار الجزيئة والنهاية `3 على يمين الجزيئة، والعكس بالنسبة للطاق السفلي. مثال عن ذلك التسلسل التالي:

5′-TAGGCAT-3′
3′-ATCCGTA-5′



(شكل3-5): بنية الدنا الحلزوني ثنائي الطاق. يمثّل طاقا هيكل الدنا المؤلف من ارتباط ما بين السكر والفوسفات (Sugar–phosphate backbone). تُمثّل الأعمدة الأفقية إلى الداخل الأسس الآزوتية (Nitrogenous base pairs) التي يرتبط بعضها ببعض بروابط هيدروجينية (Hydrogen bonds). يبلغ طول اللفة الكاملة 34 أنغستروم، وتحدث اللفة كل 10 أشفاع من الأسس الآزوتية. يتشكّل نتيجة التفاف طاقي الدنا ما يُسمى بالثّلم الكبير (Major groove) والثّلم الصغير(Minor groove).



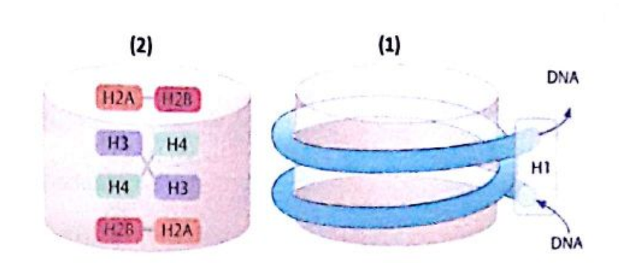
(شكل3–6): يبيّن الشكل صفة عَكْسِيّ التَّوَازِي (Antiparallel) لجزيئة الدنا. نلاحظ ارتباط الأدنين (A) مع الثيمين (T) برابطتين هيدروجينيتين، والسيتوزين (C) مع الغوانين (G) بثلاث روابط هيدروجينية.

تستعمل أزواج الأسس المتتامة (Complementary base pairs) وهي الأدنين مع الثيمين (AT) والسيتوزين مع الغوانين (CG) لتحديد طول جزيئة الدنا التي تقاس بوحد شفع من الأسس (Base pair) ويرمز لها اختصاراً bp. ومن مضاعفات هذه الواحدة كيلوأساس (Kilo base) وهوألف زوج من الأسس، ويرمز له اختصاراً Kb والميغا أساس (Mega base)، وهومليون زوج من الأسس، ويرمز له اختصاراً Mb. يبلغ طول الصبغي الأول البشري مثلاً نحو 263 Mb.

2.3. هندسة المجين البشري

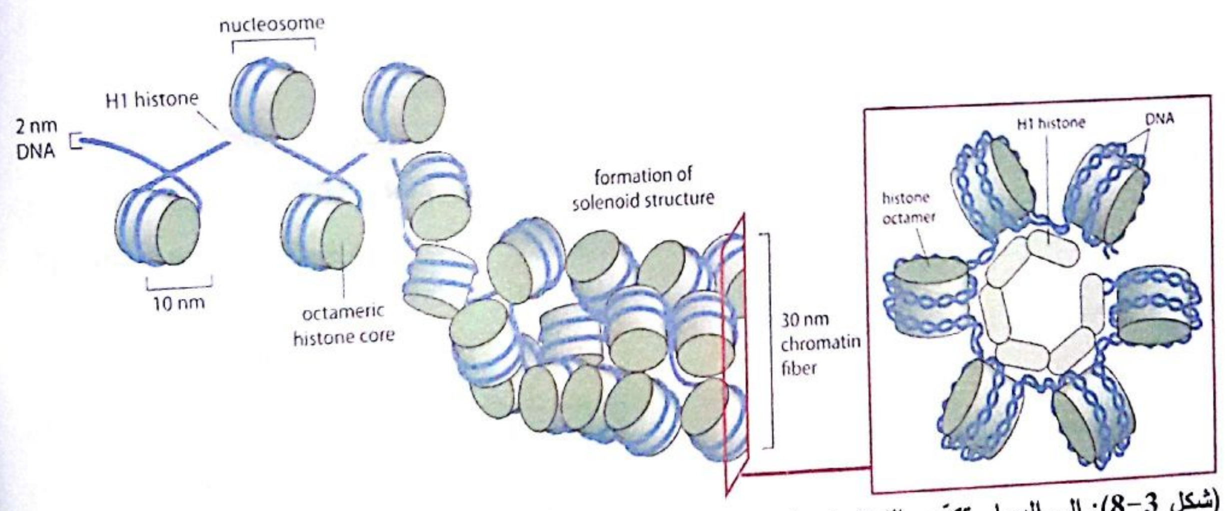
يأخذ المجين لدى حقيقيات النوى، ومنها الإنسان، بنيةً عالية الانضغاط والتنظيم. يساعده على ذلك الكثير من البروتينات. تسمى البنية المؤلفة من الدنا مع البروتين بالكروماتين (Chromatin). يلتف نحو147 شفعاً من الأسس في الدنا حول نواة مؤلفة من بروتينات الهيستون مشكلاً بذلك الوحدة الأساسية

المؤدية لانضغاط المجين. يطلق على هذه الوحدة اسم النيكليووزوم (Nucleosome). تتألف نواة الهيستون البروتينية من اجتماع أربع مثنوياتٍ من كلٍ من الهيستونات H2A وH2B وH3 وH4 **شكل** (3-7).



(شكل 3-7): (1) بنية النيكليوزوم إذ يلتف الدنا حول نواة بروتينية هيستونية. (2) تتألف هذه النواة من ثماني موحودات هي: $(H2A)_2$ و$(H2B)_2$ و$(H3)_2$ و$(H4)_2$.

تتدلى نهاياتٌ أمينيةٌ من الهيستونات خارج النيكليوزوم فيها أحماض أمينية معينة تخضع لتفاعلات الكيميائية مثل الأَسْتَلَة (Acetylation)، أو الفَسْفَرَة (Phosphorylation)، أوالمَثْيَلَة (Methylation)، وكلها لها مساهماتها الكبيرة في التعبير الجيني. تتكدس النيكليوزومات بعضها فوق بعض بمساعدة الهيستون H1 لتشكل ليف الكروماتين (Chromatin fiber) الذي يبدو إذا ما أخذنا مقطعاً فيه كمِلَف لَولَبي (Solenoid) **شكل** (3-8).



(شكل 3-8): إلى اليسار تكدّس النيكليوزومات بعضها فوق بعض وتشكيلها لليف الكروماتين. إلى اليمين بنية الملف اللولبي.



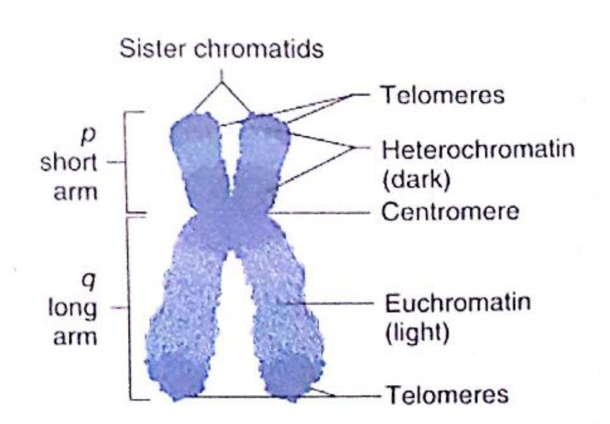
3.3. الصبغيات والنظام الجيني (The Genetic System Chromosomes)

الصبغيات بنى خيطية مجهرية رفيعة تكمن في نواة الخَلِيَّة حَقيقِيَّة النَّواة (Eukaryotic cell)، وتحمل معظم المعلومات الوراثية في الكائن الحي. وصف Flemming في عام 1882 حركة الصبغيات خلال الدورة الخلوية. وفي عام 1888 أطلق Waldeyer كلمة صبغي على البُنى الملوّنة وهي مشتقة من كلمتين في اللغة الاغريقية Chroma معناها اللون، و Soma معناها الجسم.

تُنتِج الكائنات الحية المتكاثرة بالجنس (Sexually reproducing organisms) أعراساً (Gametes) تملك نسخةً واحدةً من الصبغيات (Haploid)، ويعود الفضل في ذلك الاختزال للإنقسام الانتصافي (Meiosis). تتأمن الاستمرارية البيولوجية من جيل بشري إلى آخر بواسطة الاندماج ما بين نطفةٍ (Sperm) آتيةٍ من الأب مع بيضةٍ غير مخصبةٍ (Unfertilized egg) آتيةٍ من الأم مما يشكل الزيجوت (Zygote). تمر الزيجوت بعد انغراسها في الرحم بسلسلةٍ من الانقسامات الخلوية ليتشكل بعد أشهرٍ تسعة فرد كامل مكون من عددٍ كبيرٍ من الأنماط الخلوية، والأنسجة، والأعضاء المختلفة. تتميز هذه العملية التوالدية بتعقيدها الكبير، وبحاجتها إلى التناغم ما بين الكثير من التفاعلات الكيميائية الحيوية والخلوية والنسيجية. يؤدي النظام الوراثي، ممثلاً بالصبغيات وما يحمله من جيناتٍ، دوراً حاسماً في العملية التوالدية.

1.3.3. بنية الصبغيات البشرية (Human Chromosome Structure)

يتألف الصبغي بشكلٍ أساسي من DNA وبروتين وقليل من الـ RNA. يحوي كل صبغي على ثلاث مناطق مهمة تضمن له بقاءه وتضاعفه هي: القُسَيم المَرْكَزِيّ (Centromere) والقُسَيمان الطَرَفِيّان (Telomeres) وأماكن لتَنَسُّخ الدَّنا (Origin of replication sites) **شكل(3-9)**.



(شكل3-9): **صورة للصبغي في الطور التالي وهومكونٌ من شِقَّا الصِّبْغِيّ المُتَآخيين (Sister chromatids).**

تكمن أهمية **القُسَيم المَرْكَزِيّ** في ربطه لمِغْزَل الانقسام التَفَتُّلِيّ (Mitotic spindle) بواسطة بروتينات الحَيِّز الحَرَكِيّ (Kinetochores) المتوضعة عليه خلال الانقسام الخلوي. يبقى شِقَّا الصِّبْغِيّ

المُتَآخيان ملتصقين بعضهما ببعض في منطقة القُسَيم المَرْكَزِيّ حتى طور الصعود في الانقسام الخلوي حين يفترقان. يبلغ طول القُسَيم المَرْكَزِيّ عند الإنسان عدة ملايين من أشفاع الأسس. ويتكوّن بشكلٍ رئيسيٍ من α-satellite DNA وهوعبارة عن تكرار لنسخ من الدنا يبلغ حجم الواحدة منها 171bp. تتوضع بروتينات CENP (Centromere-binding protein) بشكلٍ نوعي على α-satellite، وتؤدي دوراً مهاماً أثناء تضاعف الصبغيات خلال الانقسام الخلوي.

القُسَيم الطَرَفِيّ معقدٌ من دنا مُغاير وبروتين. يكثُر فيه، لدى الإنسان، تكرار بشكلٍ ترادفيٍّ للتسلسل TTAGGG ، يمتد التكرار على منطقةٍ طولها نحو10 – 15 kb. يُسمى البروتين المرتبط مع القسيم الطرفي بـ Telosome، وهو مؤلفٌ من الكثير من البروتينات من أهمها TRF1 وTRF2 (Telomere repeat binding factor) اللذان يرتبطان مع وحدات TTAGGG. ويصبح القُسَيم الطَرَفِيّ أقصر بعد كل دورة انقسام خلوي في معظم أنماط الخلايا.

تُدعى المنطقة الممتدة ما بين القسيم الطرفي والمناطق الغنية بالجينات بتحت القسيم الطرفي (Subtelomeres). تحوي هذه المنطقة على بعض الجينات المُرمِّزة للبروتينات، إذ يبلغ تعدادها 500 جين على الأقل في كل مناطق تحت القسيم الطرفي في الصبغيات كلها (**شكل 3–10**) .



(شكل 3–10): يحوي القسيم الطرفي على تكرارات تمتد إلى منطقة ما تحت القسيم الطرفي لتتغير بعددها وتركيبها كلما اتجهنا نحوالقسيم المركزي.

2.3.3. الحفاظ على عدد الصبغيات (Maintaining the Chromosome Number)

في الحالة الطبيعية في نواة الزيجوت البشرية 46 بنية مجهرية خيطية (Microscopic threadlike structures) أو23 شفعاً (Pairs) من هذه البنى غير مرئيةٍ بالعين المجردة، تدعى هذه البنى بالصبغيات. تحتوي نواة كل خلية بنت في نهاية الانقسام الأول الذي تخضع له الزيجوت على 23 شفعاً من الصبغيات، وبعد 40 انقساماً تالياً تحتوي نواة كل خلية على 23 شفعاً. تضمن آلية فعالة خلال دورة الانقسام الفَتِيْلِيّ (Mitotic cycle) استقبال كل خلية بنت للعدد نفسه من الصبغيات بعد كل انْقِسَامٍ فَتِيْلِيّ.

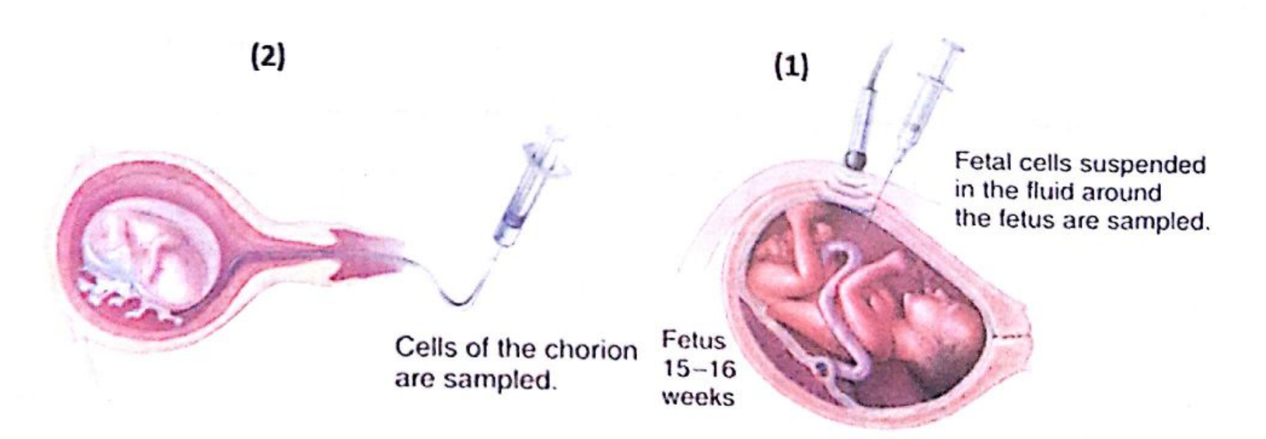
تنجم الأعراس بنوعيها النطفة والبيضة عن انقسام خلوي. وقد يخطر ببال أحدنا أن نحصل على زيجوت تحوي 92 صبغياً (46 صبغياً آتياً من النطفة و46 صبغاً آتياً من البويضة)، وإذا ما استمر الحال على

هذا المنوال فإنه من المتوقع أن نحصل بعد 10 أجيال على خليةٍ تحوي نواتها على 47104 صبغي. ولكن يضمن الانقسام الانْتِصافي أن يستتبل كل عرس عدداً واحداً من كل زوج من الصبغيات أي 23 صبغياً فقط، ولهذا وبعد الإخْصاب (Fertilization) فإن الزيجوت ستملك 23 شفعاً من الصبغيات.

يضمن الانقسام الفَتِيْلِيّ أن ترث كل خلية بنت العدد نفسه من الصبغيات، أما الانقسام الانْتِصافي فيضمن أن كل خلية عرسية لن تملك أكثر من عدد واحد من كل زوج من الصبغيات. تدعى الخلايا التي لا تولد الأعراس بالخَلاَيا الجَسَدِيَّة (Somatic cells) وهي ضِعفَانية الصيغة الصبغية (Diploid أو2N) أي تملك 23 شفعاً من الصبغيات، لدى الإنسان، من بينها 22 شفعاً مشتركاً ما بين الذكر والأنثى تسمى بالصِبْغِيّات الجَسَدِيّة (Autosomes)، والزوج المتبقي فهوالمحدد للجنس (Sex chromosomes). أما الخلايا التي تولد الأعراس فتدعى بالخلايا المُنتِشة (Germ cells)، وهي فَرِدَانِية الصيغة الصبغية (Haploid أو1N).

3.3.3. تمييز الصبغيات لدى الإنسان
(Characterizing Human Chromosomes)

نستطيع تمييز الصبغيات بعضها من بعض بإجراء النَّمَط النَّوَوِيّ (**Karyotype**). يمكننا باتباع هذه التقنية رؤية الصبغيات في الطَّور التَّالِي (Metaphase) باستعمال المجهر الضوئي. تُؤخذ العينة إمّا من بَزْل السَّلَى (Amniocentesis) أو من الزُّغاباتِ المَشيمائِيَّة (Chorionic villus sampling) إذا ما أُجري التحليل في مرحلةٍ سابِقةٍ للوِلاَدَة (Prenatal) (**شكل3-11**). أو أن تُؤخذ عينة من الدم أو من أيّ نسيج يحوي خلايا منواة إذا كان التحليل تالياً للوِلاَدَة (Postnatal). تُزرع الخلايا في وسط وشروط مناسبة، ومن ثم تُحضَّر وتلوّن.



(شكل3-11): طريقة أخذ العينة في مرحلة سابِقة للوِلاَدَة. (1) من سائل السلى (Amniotic fluid) الحاوي على خلايا من الجنين ابتداءً من الأسبوع الخامس عشر من الحمل. (2) من الزُّغاباتِ المَشيمائِيَّة ابتداءً من الأسبوع العاشر من الحمل.

1.3.3.3. تلوين الصبغيات:

أولاً إمّا ان تُعالَج الصبغيات أنزيم التريبسين (Trypsin) أو أن تخضع لتمَسُّخ (Denaturation) حراري.
ثانياً تُلوّن بصباغ خاص بالدنا.

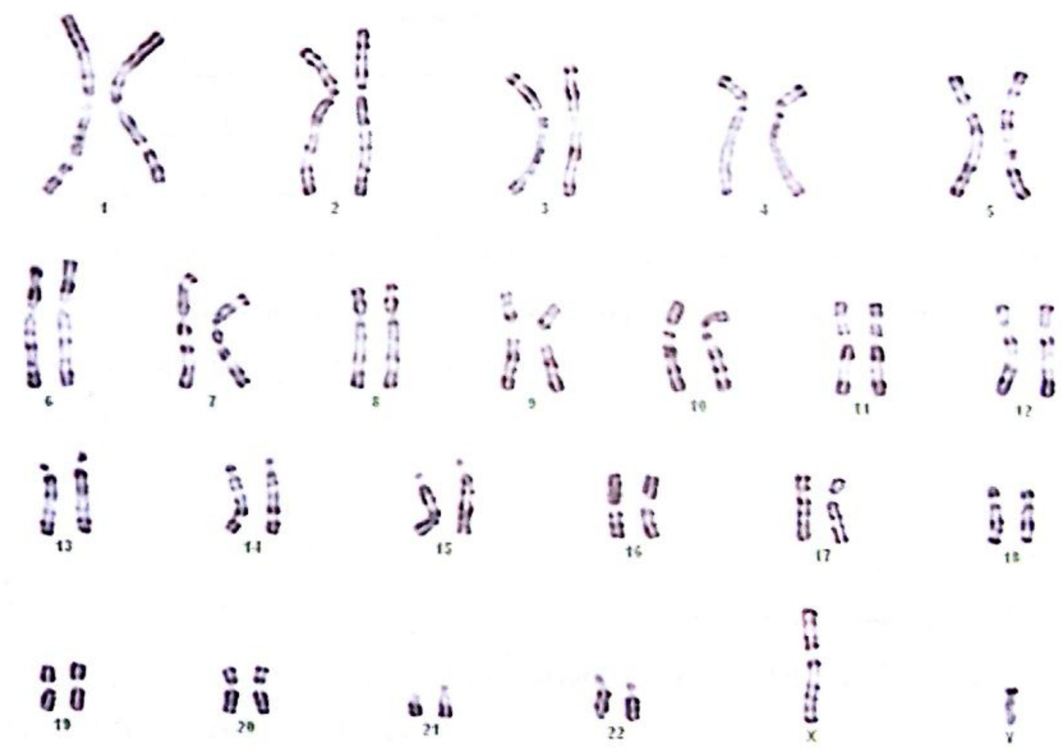
- النمط النووي ذو العُصابات G (G bands): نحصل عليها بعد المُعالجة الإنزيمية ثم التلوين بملون غيمزا (Giemsa stain) (**شكل3-12**).
- النمط النووي ذوالعُصابات R (R bands): نحصل عليها بعد التمسخ الحراري والتلوين بملون غيمزا. نمط توزع العُصابات معاكس (Reverse) تماماً للعُصابات في النمط النووي ذي العُصابات G ، ومن هنا اسمها (**شكل3-13**).
- النمط النووي ذوالعُصابات C (C-banding): نحصل بعد التمسخ بهيدروكسيد الباريوم (Barium hydroxide) متبوعاً بالتلوين بملون غيمزا، ويظهر فيه مناطق الكروماتين المُغاير (Heterochromatin) خصوصاً القسيمات المركزية في الصبغيات.
- النمط النووي ذو العُصابات Q (Q-banding): نحصل عليه باستخدام ملون تألقي (Fluorescent) مثل ملون الكيناكرين (Quinacrine stain). يتميز هذا الملون بعشقه للمناطق الغنية بأساسي الأدينين والثيمين (AT-rich DNA).

لقد اصطلح على نَسْبِ العُصابات إلى الحرف الأول من اسم الملون المُستَخْدم مثلاً: عُصابات G أوعُصابات R أوعُصابات C. يجب التأكيد هنا أنه لدى استخدام طريقة تلوين معينة فإننا نحصل على نمط توزّع للعُصابات على الصبغيات متشابه ما بين أفراد الكائن الحي الواحد. لم يعرف حتى الآن الأساس الفيزيائي لظهور تلك العُصابات، وقد يكمن السبب في أحد الاحتمالات التالية:

- تباين في تسلسل الدنا المكون للعُصابات المختلفة، بمعنى آخر الاختلاف بتركيب النُوكْلِيُوتيدات (Nucleotides) ما بين هذه العُصابات.
- وجود بنى ثانوية مثل العُرى (Loops) في مناطق معينة في الصبغيات دون غيرها.
- ارتباط بروتينات معينة مع مناطق محددة من الصبغيات دون غيرها.



(شكل3−12): النمط النووي ذو الغُصابات G (G bands).



(شكل3−13): النمط النووي ذوالغُصابات R (R bands) للفرد نفسه الذي أجري له نمط نووي ذو الغُصابات G.
نلحظ أن نمط توزع الغُصابات على الصبغيات في هذا النمط معاكس تماماً للمشاهد في النمط النووي ذي الغُصابات G.

نُميِّز في الصبغي بعد التلوين القُسَيم المَرْكَزِيّ وقُسَيمين طَرَفِيّين وعُصَابَات (أشرطة) (Bands). يشاهد القُسَيم المَرْكَزِيّ كتضيق يقسم الصبغي إلى قسمين يدعيان بالذراعين (Arms). يملك القسيم المركزي مكاناً ثابتاً في كل صبغي. لا يتوضع القُسَيم المَرْكَزِيّ غالباً في المنتصف لذا يمكننا تمييز ذراعين أحدهما قصير والآخر طويل. يطلق على الذراع القصير حرف p، مأخوذ من الكلمة الفرنسية (Petite)، وأما الذراع الطويل فيطلق عليه حرف q بسبب ترتيبه الأبجدي بعد حرف p.

قُسِّمت الصبغيات بحسب توضع القسيم المركزي فيها إلى مجموعاتٍ رئيسيةٍ ثلاث:

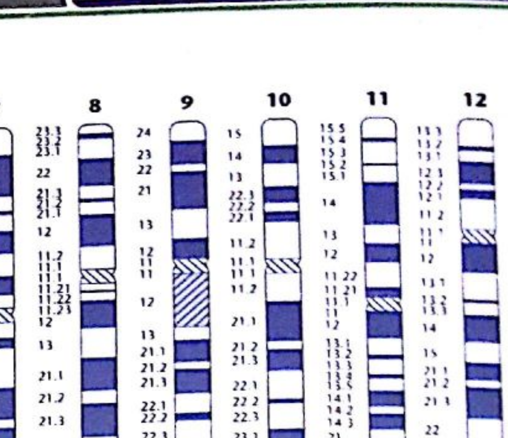
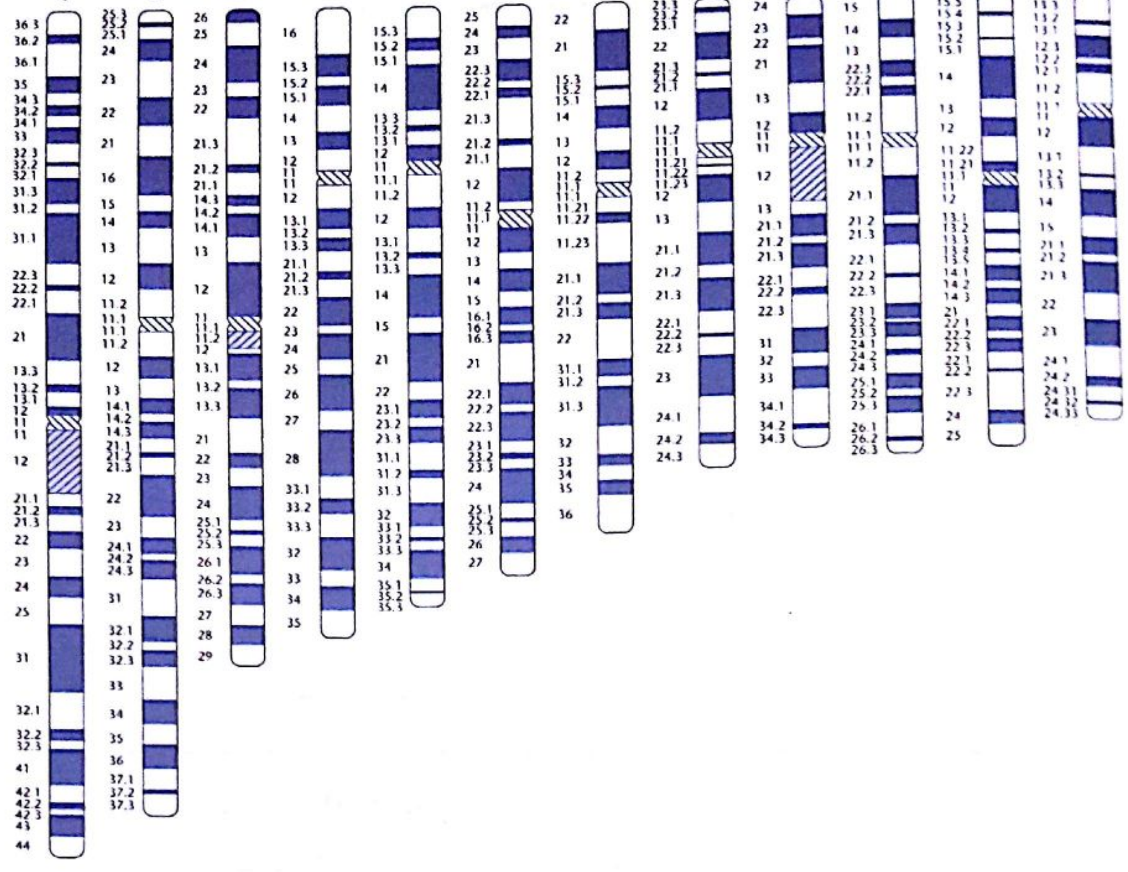
- صِبْغِيَّات وَسَطِيّة القُسَيمِ المَرْكَزِي (Metacentric chromosome): فيها يتوضع القسيم المركزي في منتصف الصبغي تقريباً (الصبغيات: 1، 2، 3، 16، 19، 20).
- صِبْغِيَّات مَوسَطانِيّة (Submetacentric chromosome): فيها يتوضع القسيم المركزي بالقرب من وسط الصبغي (الصبغيات: 4، 5، 6، 7، 8، 9، 10، 11، 12، 17، 18، X).
- صِبْغِيَّات طَرَفِيّة القُسَيمِ المَرْكَزِي (Acrocentric chromosome): فيها يكون توضع القسيم المركزي بالقرب من إحدى نهايتي الصبغي (الصبغيات 13 و14 و15 و21 و22 وY).

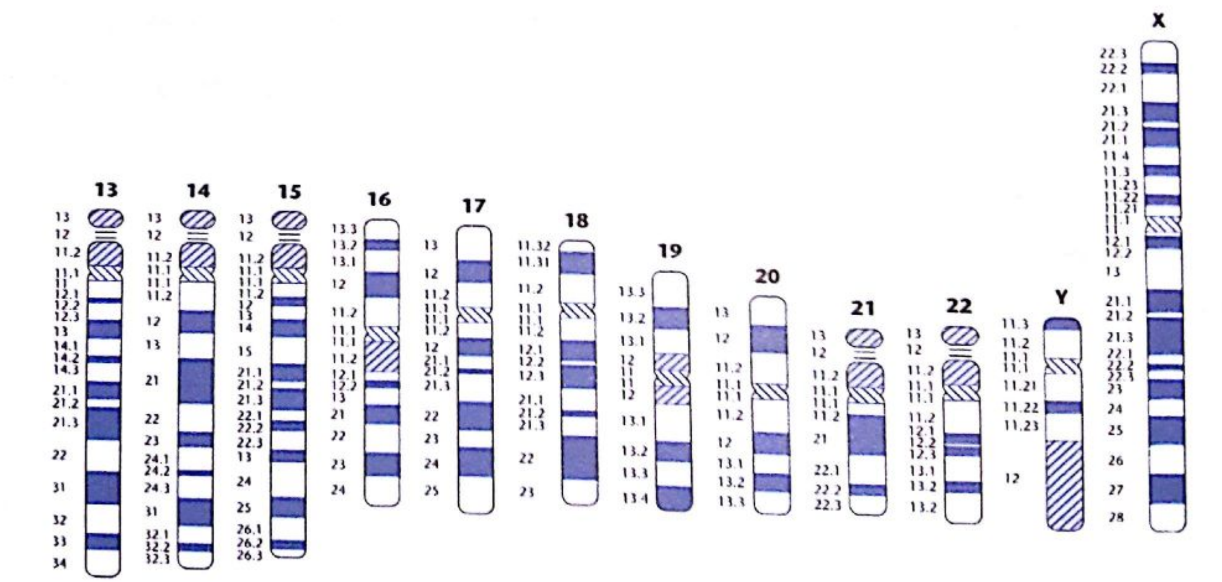
تملك الصبغيات 13، 14، 15، 21، 22 نهايات تشبه فقاعة تُدعى بالساتِل (Satellite). تتصل هذه الفقاعة بسويقة مع بقية الصبغي. في سويقات الصبغيات هذه جينات مُرمِّزة للرنا الرِّيباسِيّ وللبروتين الرِّيباسِيّ. تجتمع هذه المناطق بعضها مع بعض لتشكل النويات داخل النواة إذ تُصنَّع الريباسات.

ترقم الصبغيات الجسدية لدى الإنسان تنازلياً حسب طولها من 1 حتى 22. يملك الصبغيان المحدِّدان للجنس لدى الأنثى الشكل نفسه ويرمز له بالرمز X ، وأما الذكر فيملك صبغياً مشابهاً للصبغي X وصبغياً آخر يخص الذكر يدعى الصبغي Y. يختلف الصبغيان المحددان للجنس X وY في طولهما.

عندما نقوم بترتيب الصبغيات فإننا نحصل في النهاية على ما يسمى بالنَّمَط النَّوَوِيّ. لا يعكس رقم الصبغي دائماً طوله، فالصبغي 22 أطول قليلاً من الصبغي 21 ومع ذلك اتفق العاملون في مجال الوراثة الخلوية (Cytogeneticists) على إبقاء التسمية كما هي.

تُصنَّف الصبغيات بالاعتماد على طولها وعلى مكان تموضع القسيم المركزي وعلى نمط العُصابات. لدى تلوين الصبغيات يكتسب كل صبغي نمطاً مميزاً من تناوب العُصابات الداكنة والفاتحة (Light and dark bands (**شكل3-14**). تُعرَّف العُصابة على أنها جزءٌ من الصبغي قابلة للتمييز بسهولة من المنطقة (أومن المنطقتين) المجاورة لها إما بسبب كونها أكثر قتامةً أوأكثر نصوعاً. يختلف نمط توزع العُصابات باختلاف طريقة التلوين المتبعة.



(شكل3-14): النمط النووي ذو العُصابات G. تُمثّل العُصابات الداكنة مناطق الكروماتين المُغايِر (Heterochromatin) في الصبغي، فيما تُمثّل العُصابات الفاتحة مناطق الكروماتين الحَقيقِيّ (Euchromatin). في هذا الشكل تظهر العُصابات في الصبغيات بيضاء كانت أم سوداء كأجزاء مستعرضة، ويرمز للقسيمات المركزية

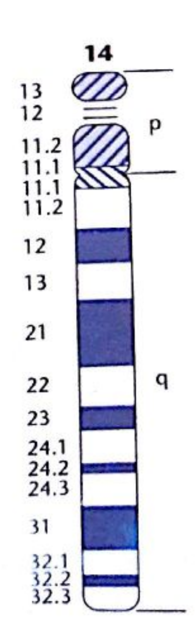
وللمناطق التي تتلون بشكل متغاير بخطوط مائلة، كما اصطلح على أن الجزء العلوي من الصبغي هو للذراع القصير دائماً.

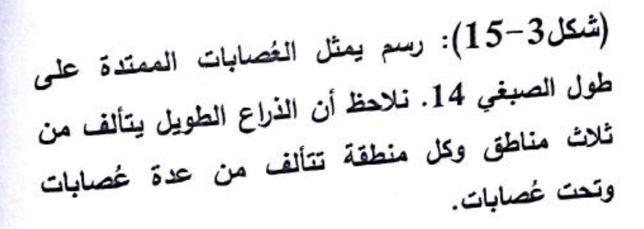
2.3.3.3 . التسمية الاصطلاحية للصبغيات:

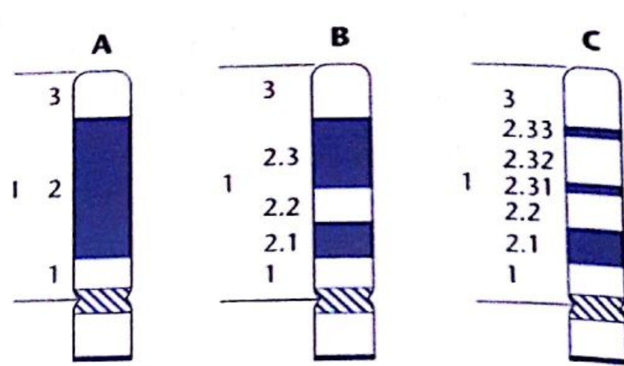
بعيداً عن الأساس الفيزيائي لسبب ظهور العُصابات في الصبغيات، يمكننا أن نميز في كل صبغي نمطاً معيناً وثابتاً من العُصابات تسمح لنا بتمييز الصبغيات بعضها من بعض، وبتمييز العُصابات ضمن الذراع الواحد بشكل سهل. تم في البداية تحديد 400 عُصابة في النمط الفرداني لمجموعة الصبغيات البشرية.

استعملت الأرقام العربية لترقيم المناطق ابتداءً من القسيم المركزي باتجاه القسيمين الطرفيين وبشكل تصاعدي. فمثلاً قسم الذراع الطويل في الصبغي رقم 1 إلى 4 مناطق، والذراع القصير في الصبغي نفسه إلى 3 مناطق. وحدد الذراع القصير في الكثير من الصبغيات كمنطقة واحدة. تقسم المنطقة الواحدة إلى عصابات عدة وإلى تحت عُصابات (Subbands). وعليه يمكن قراءة الرمز 14q21 المشاهد في **(الشكل 3-15)**. كالتالي: العُصابة 1 من المنطقة 2 في الذراع الطويل للصبغي 14.

لدى تحسن دقة وطريقة إجراء النمط النووي تَجاوزَ عدد العُصابات الظاهرة على الصبغيات إلى 550 ليصل في بعض الأحيان إلى 850 عصابة. وجد في هذه الحالة أن العُصابات الأساسية نفسها مكونةٌ من أكثر من عصابة دعيت بتحت العُصابات. وبقيت القاعدة نفسها مستعملةً في ترقيم تحت العُصابات ابتداءً من القسيم المركزي حتى القسيم الطرفي. يظهر **(شكل3-16)** نموذجاً واضحاً لترقيم المناطق والعُصابات في الصبغي.




(شكل3-15): رسم يمثل العُصابات الممتدة على طول الصبغي 14. نلاحظ أن الذراع الطويل يتألف من ثلاث مناطق وكل منطقة تتألف من عدة عُصابات وتحت عُصابات.



(شكل3-16): رسم توضيحي يُبيّن كيفية ترقيم الغصابات على طول ذراع من صبغي ما وفق النظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (The International System for Human Cytogenetic Nomenclature) الذي يُرمز له اختصاراً (ISCN).

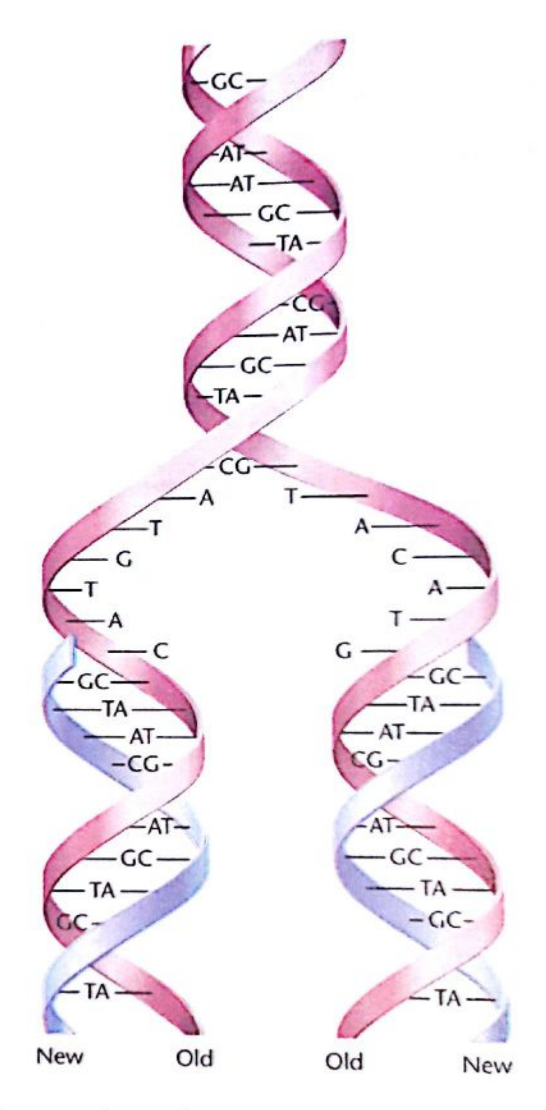


وفقاً للنظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان فإنه في الحالة A وفي شروط " دقة عصابات " منخفضة (Low band resolution) يقسم الذراع القصير للصبغي إلى منطقة واحدة تحوي ثلاث عصابات. في الحالة B وفي شروط " دقة عصابات " أعلى (Higher band resolution) يقسم الذراع القصير للصبغي إلى منطقة واحدة تحوي ثلاث عصابات، وتقسم العصابة 2 إلى ثلاث تحت عصابات. في الحالة C وفي شروط " دقة عصابات " عالية يقسم الذراع القصير للصبغي إلى منطقة واحدة تحوي ثلاث عصابات، وتقسم العصابة 2 إلى ثلاث تحت عصابات، وتقسم تحت العصابة 3 إلى ثلاث عصابات إضافية أخرى

الفصل الرابع
تضاعف (تنسّخ) الدنا
DNA Replication

المحتويات Contents

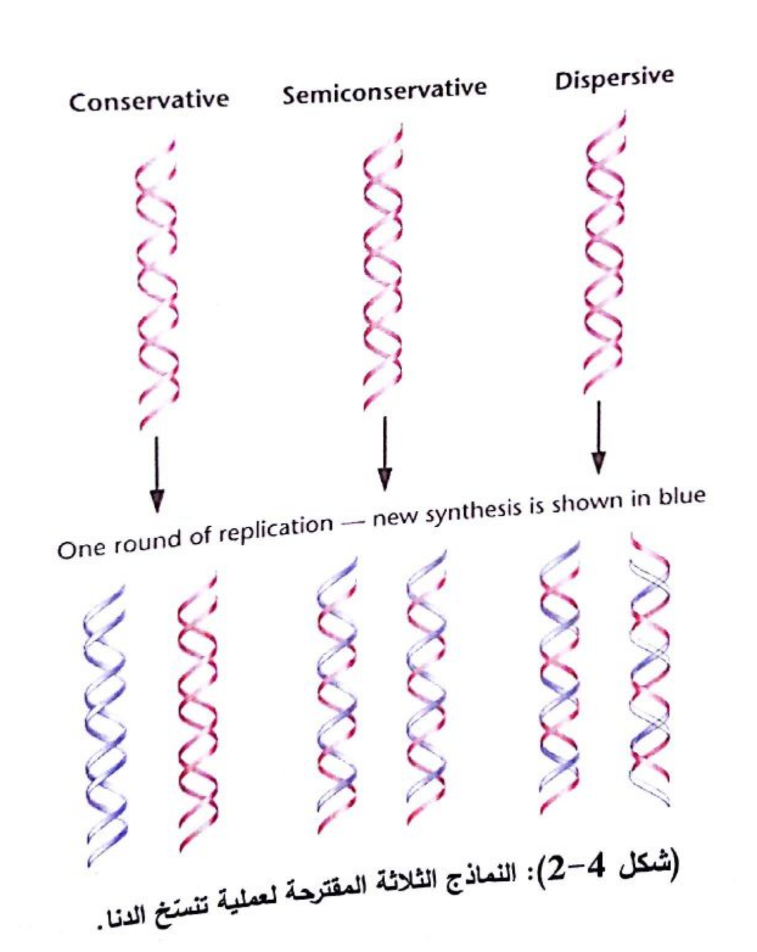
تعد عملية تنسّخ الدنا مهمةً لتأمينها انتقال المعلومات الوراثية عبر الأجيال. لقد توضحت هذه العملية بعد اكتشاف واتسون وكريك لشكل جزيئة الدنا ثنائي الطاق. تنسّخ الدنا هوعملية اصطناع لجزيئة دنا جديدة ابتداءً من جزيئة دنا موجودة تعمل كمِرصاف (Template) لاصطناع الجزيئة الجديدة. يُطلق على عملية تنسخ الدنا بالتَنَسُّخ نِصْف المُحافِظ (Semiconservative replication)، وذلك بسبب أن كل جزيئة دنا جديدة متشكلة تحوي طاقاً أي نصف جزيئة الدنا الأصلية (**شكل4-1**).



(شكل4-1): عملية تنسّخ الدنا نِصْف المُحافِظة. يُلاحظ الدنا المُصنَّع حديثاً باللون الأزرق.

ذُكِرَت فرضيتان إضافيتان لتنسّخ الدنا (**شكل4–2**).

- الأولى تفترض أن طاقي الدنا الجديدين المُصنعين يعودان ليرتبطَ بعضهما ببعضٍ بواسطة الروابط الهيدروجينية بين الأدينين والثيمين من جهة وبين السيتوزين والغوانين من جهة أخرى. أطلق على عملية التضاعف هذه التَنَسُّخ المُحافِظ (Conservative replication).
- الثانية تفترض أن الطاقين الأصليين ويسمّيان الطاقين الوالديين (Parental strands) يتبعثران ما بين جزيئتي الدنا المتشكلتين. أطلق على عملية التضاعف هذه التَنَسُّخ المُبَعْثَر (Dispersive replication). تحتاج عملية تنسّخ الدنا في عملية التضاعف هذه لانقسام الطاقين الوالديين خلال عملية التضاعف حيث تصبح العملية جد معقدة. ويمكن القول: إنّ التَنَسُّخ المُبَعْثَر نادر الحدوث.

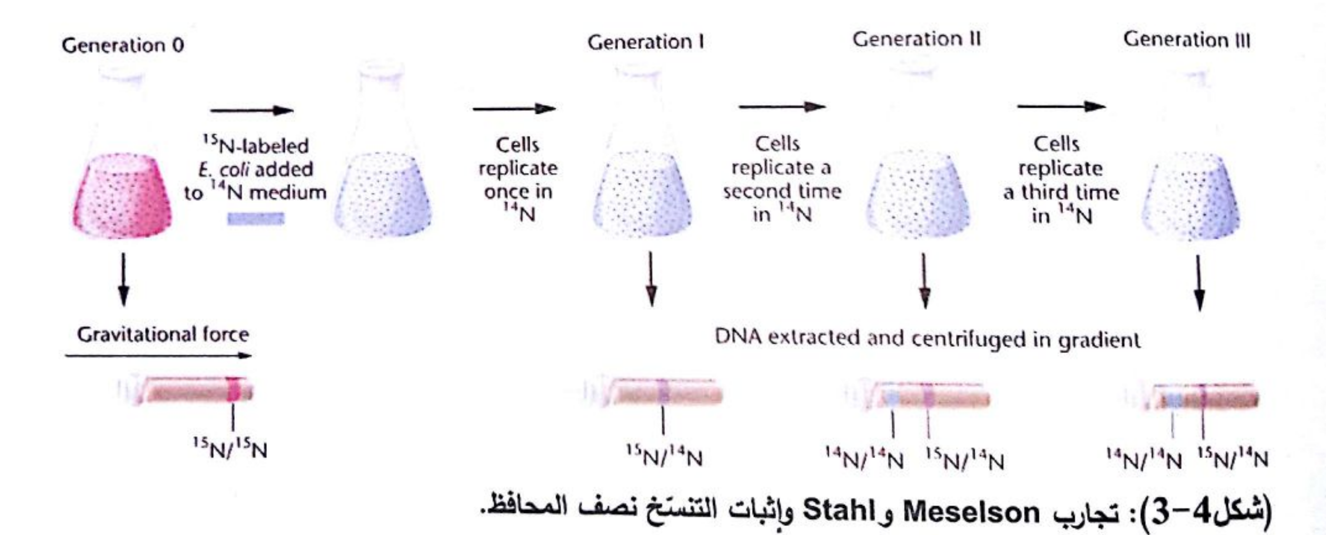


(شكل 4–2): النماذج الثلاثة المقترحة لعملية تنسّخ الدنا.

1.4. تجارب Meselson وStahl

نشر كلٌّ من Meselson Matthew وStahl Franklin عام 1958 نتائج تجاربهما حول تنسّخ الدنا في الجراثيم. زرع الباحثان جرثومة الإشْريكِيَّة القولونِيَّة (Escherichia coli)، اختصاراً يُرمَز لها E.coli، في وسط يحوي $^{15}NH_4Cl$. ^{15}N هو نَظيرٌ ثَقيل (Heavy isotope) وثابت للنِتْرُوجين.

جمع الباحثان الجراثيم وقاما بإجراء تَنْبيذ مُتَدَرِّج الكَثافَة (Density gradient centrifugation) ولاحظا وجود جزيئات الدنا الحاوية على ^{15}N فقط في أسفل الأنبوب. مما يعني أن جزيئات الدنا الحاوية على ^{14}N الطبيعي مرتبطة مع تلك المُصنَّعة حديثاً. أعيدت التجربة مرة ثانية، وزُرعت الجراثيم الحاوية على ^{15}N في وسط يحوي $^{14}NH_4Cl$ ليكون مصدراً للنِتْرُوجين، وهو مماثل لذاك الموجود في الدنا الطبيعي. ثم أجري التثفيل بعد كل مرة تتضاعف فيها الجراثيم. لُوحظ ترسب الدنا الجديد بعد جيل واحد من زرع الجراثيم في مكان أعلى من أسفل الأنبوب. وبعد جيلين من الزرع ظهرت عصابتا ترسيب، وبقيت العصابتان بعد ثلاثة أجيال. تفسير ذلك أن نسبة الدنا الحاوي على ^{15}N و^{14}N في الجيل الأول كانت متساوية، فيما قلّت نسبة جزيئات الدنا الحاوي على ^{15}N في الجيلين الثاني والثالث دون أن تختفي، وزادت نسبة جزيئات الدنا الحاوية على ^{14}N، وهو ما يفسر ظهور عصابتي ترسيب. تم التأكيد من خلال هذه التجارب أن الجراثيم تعتمد تنسّخ الدنا نِصْف المُحافِظ **(شكل4-3)**.



(شكل4-3): تجارب Meselson وStahl وإثبات التنسّخ نصف المحافظ.

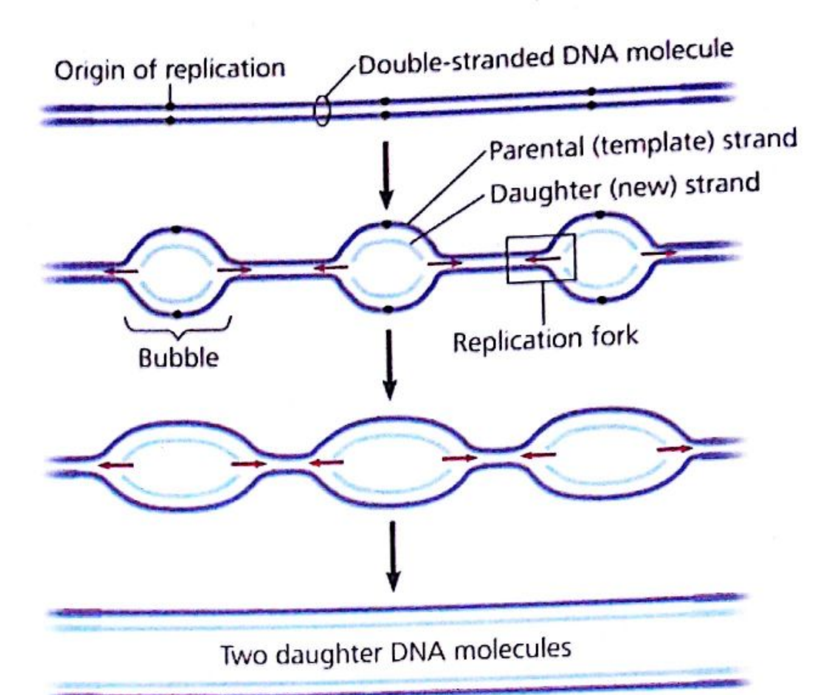
2.4. مراحل تنسخ الدنا (Steps of DNA Replication)

يحدث تنسّخ الدنا خلال طور الاصطناع (S phase) من الدورة الخلوية (cell cycle). يدخل في عملية تنسّخ الدنا عددٌ كبيرٌ ومتنوعٌ من البروتينات والإنزيمات ابتداءً من عملية فك طاقي الدنا بعضهما عن بعض وانتهاءً بتحري الأخطاء الناجمة عن عملية التنسّخ وإصلاحها.

يتنسّخ الدنا خلال طور الاصطناع (S phase) في كل من الانقسام الفتيلي والانقسام الانتصافي. تبدأ العملية بإبعاد البروتينات المرتبطة مع الدنا في حقيقيات النوى أو تعديلها حيث تسمح للبروتينات والإنزيمات الداخلة في تنسّخ الدنا بالقيام بعملها. تعود هذه البروتينات (الهيستونات وغيرها) للارتباط من جديد بالدنا حالما تنتهي عملية التنسّخ وتشكّل جزيء دنا جديداً. تتم عملية اصطناع جزيئات الهيستون (Histone) بالتزامن مع تنسّخ الدنا في الطور S من الدورة الخلوية.

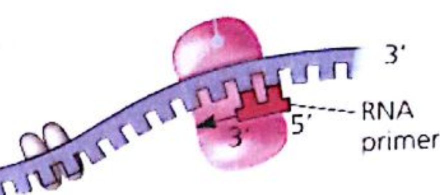
- تبدأ عملية التنسّخ بتحطيم جزئي لروابط الهيدروجين ما بين الأسس الآزوتية المتقابلة ما بين طاقي الدنا. يُدعى المكان الذي يحدث فيه تحطيم لروابط الهيدروجين بشوكة التنسّخ (Replication fork). تؤدي عملية تحطيم روابط الهيدروجين إلى فك طاقي الدنا الملتفين (Unwinding)، وتتم بواسطة إنزيم Helicase. ترتبط بروتينات مع طاقي الدنا لتبقيهما متباعدين. يسبب فك طاقي الدنا بعضهما عن بعض زيادة في توتر والتفاف الطاقين، وتشكل عقدة في منطقة قريبة من شوكة التنسّخ. لذا يقوم إنزيم الـ Topoisomerase بقطع طاقي الدنا وحل العقدة أو الالتواء المتشكل عن فك الارتباط بين طاقي الدنا ثم وصل الطاقين بعضهما مع بعض كما كانا في الأصل (**شكل4-4**) و(**شكل4-5**).





(شكل 4-4): يبدأ التنسَخ بتشكل شوكة التنسَخ في مواقع عدة على طول الدنا الخطي، يليه ظهور ما يسمى الفُقَّاعات (Bubbles)، وهي إشارة إلى أن عملية التنسّخ قد بدأت في الاتجاهين.

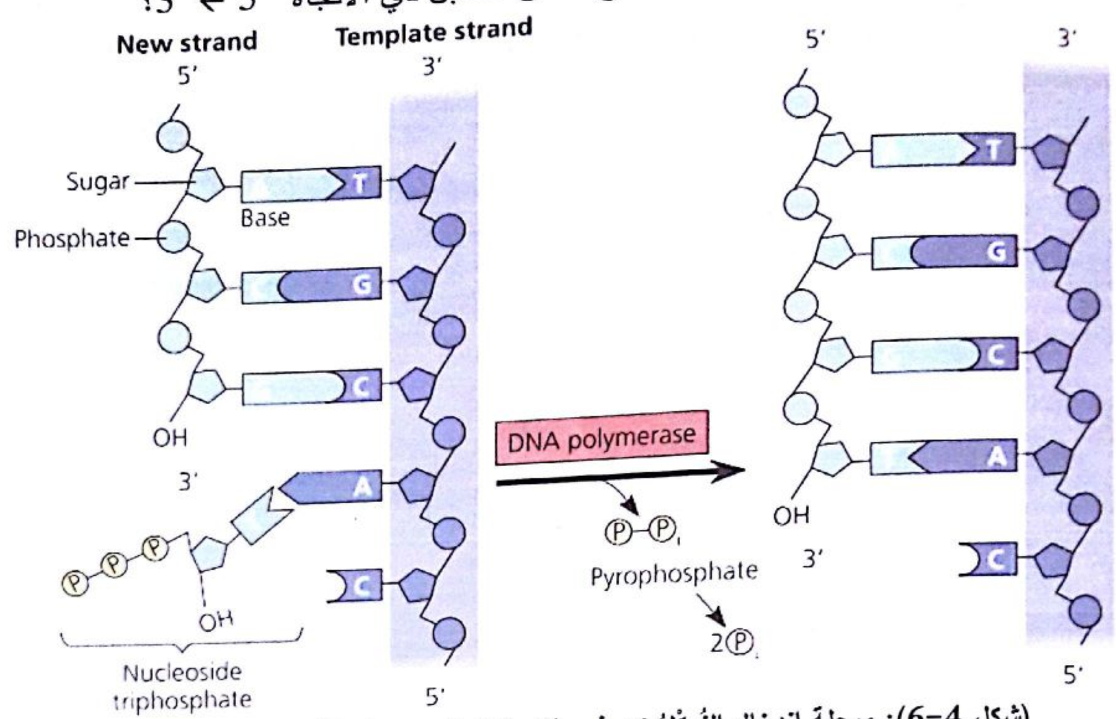
- يقوم إنزيم الـ primase باصطناع مَشارِع من الرنا (RNA primers)، ترتبط مع طاق الدنا في أماكن بدء التنسّخ. يبلغ طول المَشرع الواحد نحو5-10 نُوكْلِيُوتيد، ويبدأ اصطناع الطاق الجديد من الدنا من النهاية `3 للمشرع (**شكل 4-5**).



(شكل 4-5): دور بعض الإنزيمات والبروتينات الداخلة في عملية تنسّخ الدنا.

– يرتبط إنزيم بُوليمِيراز الدَّنا من النمط الثالث (DNA polymeraseIII) ، يُرمَز له اختصاراً DNA pol III، مع مَشارع الرنا ويقوم بجلب النُوكْلِيُوتيدات ورصفها بشكلٍ متمم للطاق الأصلي ويُسمى بالمِرْصَاف (Template)، وربط بعضها مع بعضٍ. تُضاف النُوكْلِيُوتيدات تباعاً ابتداءً من مَشرع الرنا. إذ ترتبط زمرة الفوسفات للنُوكْلِيُوتيد القادم مع زمرة الهيدروكسيل (OH–) `3 الموجودة في النوكليوتيد المندخل قبلاً على طاق الدنا النامي، ويؤدي ذلك إلى تشكيل رابطة فوسفودي استر. وتكون جهة اصطناع طاق الدنا الجديد هي `5 ← `3. تملك النُوكْلِيُوتيدات المستعملة في تنسّخ الدنا ثلاث زمر متعاقبةٍ من الفوسفات متصلة مع الكربون `5 الموجود في جزيئة السكر (Deoxyribose). يطلق على النُوكْلِيُوتيدات هذه مسمى ثُلاثي فُسْفاتِ النُّوكْليُوزيد (Nucleoside triphosphate)، ويسمى الفوسفات الأول المتصل مع الكربون `5 الفوسفات $\alpha$ والثاني الذي يليه الفوسفات $\beta$ والثالث الفوسفات $\gamma$. ينفصل الفوسفاتين $\beta$ و$\gamma$ عن الفوسفات $\alpha$، ويرتبط هذا الأخير مع زمرة الهيدروكسيل (OH–) `3 الموجودة في النُوكْلِيُوتيد المندخل آنفاً. ثم تتشكل روابط هيدروجينية بين الأسس المتتامة في الطاقين المتقابلين وهي التي تمنح الثباتية للجزيئة الضخمة. تأتي النُوكْلِيُوتيدات عن طريق الغذاء. ذكرنا سابقاً أن عملية الاصطناع تتم في

الاتجاه `5 ← `3 وهي عكس اتجاه طاق الدنا الوالدي (Parental DNA)، بكلام آخر لا يستطيع إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا إضافة النُوكْلِيُوتيدات إلّا وَفق هذا الاتجاه **شكل(4-6)**. السؤال الذي يطرح نفسه هنا كيف تتم عملية اصطناع الطاق المُقابل ذي الاتجاه `5 ← `3؟



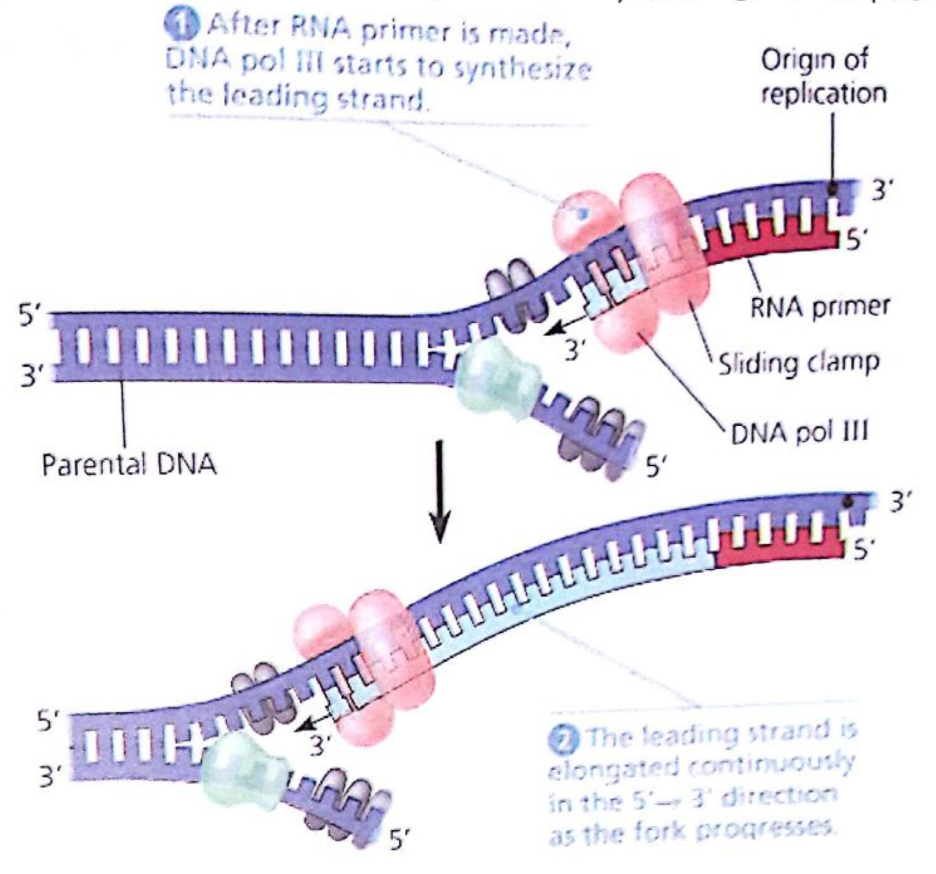
(شكل 4-6): **مرحلة ادخال النُوكْلِيُوتيد في طاق الدنا الجديد بواسطة إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا.**

إذا ما نظرت إلى **(شكل 4-7)** تجد أن اصطناع طاق الدنا الجديد ابتداءً من شوكة التضاعف يتم بعملية مستمرة ومتتابعة وفق الاتجاه `5 ← `3، تستمر عملية إدخال النُوكْلِيُوتيدات من قِبَل إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا كلّما تم فك الطاقين بعضهما عن بعض. يُسمى طاق الدنا المُصنّع وَفق الاتجاه `5 ← `3 بالطاق المباشر (Leading strand).

يصنع الطاق الجديد على الطرف المقابل على مراحل بشكل شدف، ويسمى الطاق المتلكئ (Lagging strand). يطلق على هذه الشدف اسم العالِم الياباني الذي اكتشفها أول مرةٍ Okazaki. يبلغ طول الشدف هذه نحو1000-2000 نُوكْلِيُوتيد عند بدائيات النوى، و100-200 نُوكْلِيُوتيد عند حقيقيات النوى. تحتاج كل شدفة من شدف أوكازاكي إلى مشرع خاص بها ليتم اصطناعها، بالمقابل يكفي مشرع واحد لاصطناع الطاق الرئيسي **(شكل4-8)**.

- يقوم إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا من النمط الأول (DNA polymerase I) بإزالة مَشارع الرنا قرب انتهاء تنسّخ الدنا واستبدالها بنُوكْلِيُوتيدات من الدنا.

- لا يستطيع إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا من النمط الأول ربط شدف أوكازاكي بعضها مع بعض، لذا يقوم إنزيم رابط يسمى اللِيغاز (DNA ligase) بالمهمة، ويربط بين هذه الشدف **(شكل4-8)**.



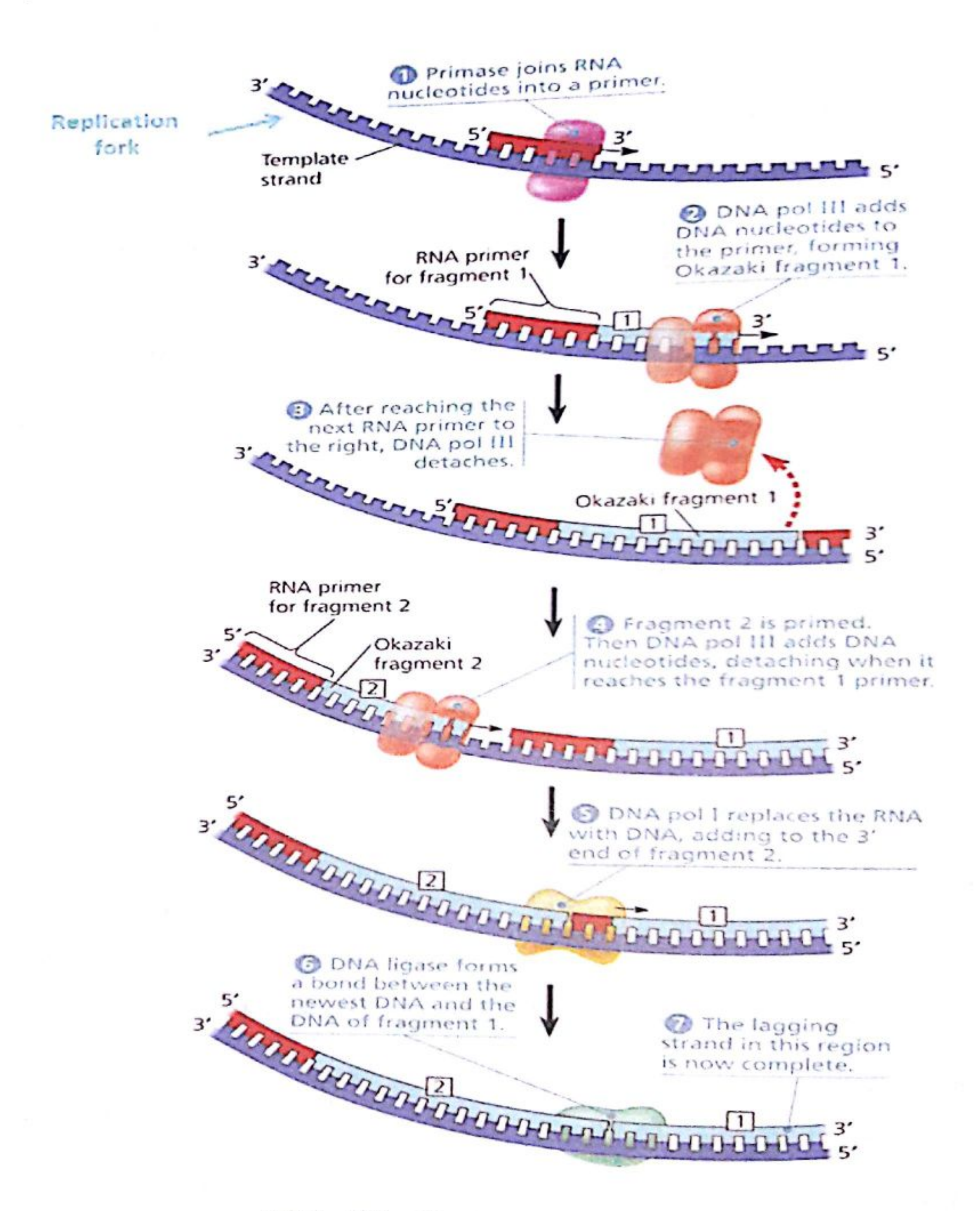
(شكل4-7): اصطناع الطاق المباشر خلال تنسّخ الدنا. يقوم البروتين sliding clamp بتحريك إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا من النمط الثالث (DNA pol III) في هذا الشكل على طول طاق الدنا.

3.4. تدقيق وإصلاح الدنا (Proofreading and Repairing DNA)

قد تحصل بعض الأخطاء مع أنها نادرةٌ (1 من 10^5) في عملية تنسّخ الدنا، وتسبب غالباً تغيراً في زوجٍ واحدٍ من الأسس، وقد يحدث أحياناً حذفٌ أو تضاعفٌ لشدفٍ من الدنا. يقوم إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا بإصلاح(repair) وتنقيح (proofread) كل نُوكْلِيُوتيد يتم رصفه مقابل النُّوكْلِيُوتيد الآخر المُتمِّم الموجود على الطاق المِرصَاف. إذا ما دخل نُوكْلِيُوتيد بشكلٍ خاطئ يقوم إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا بإزالته ووضع النُّوكْلِيُوتيد الصحيح مكانه.

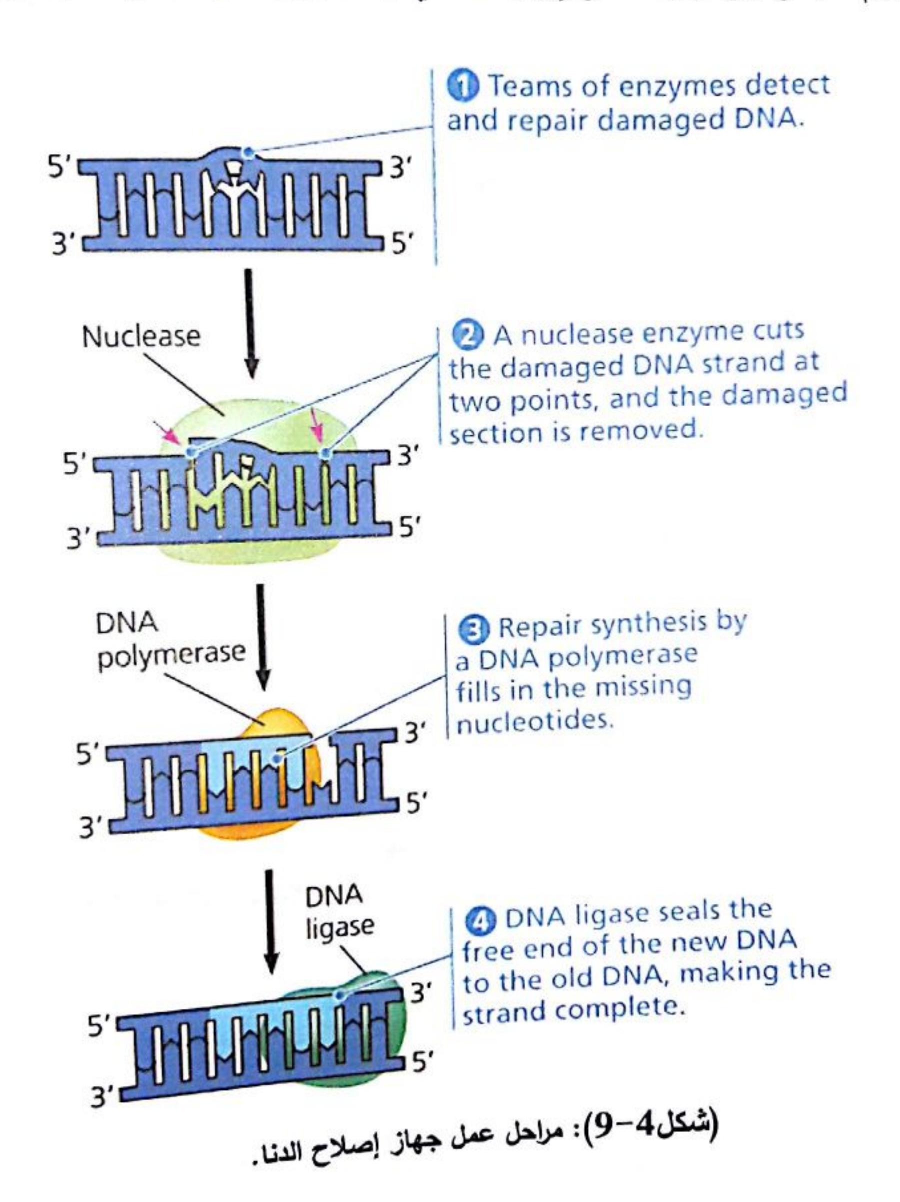
يشير مصطلح Mismatched nucleotides إلى النُّوكْلِيُوتيدات التي يقابل بعضها بعضاً في طاقي الدنا بشكلٍ خاطئ، كأن يتقابل السيتوزين مع الثيمين. تستطيع بعض النُّوكْلِيُوتيدات المتقابلة بشكلٍ خاطئ

بعضها مع بعض أن تتفادى إصلاحها من قبل إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا. ولكن تقوم مجموعة أخرى من البروتينات والإنزيمات بمهمة إصلاح الخلل، تُسمى هذه المجموعة جهاز إصلاح الدنا (DNA repair system). يقوم هذا الجهاز بإصلاح الخلل الناجم عن تنسّخ الدنا وإصلاح أذيات الدنا (Damaged DNA) المُسبَّبة بعوامل كيميائية أوفيزيائية كي لا تتشكل الطفرة. تتلخص عملية إصلاح الدنا بالخطوات الآتية (شكل4-9):



(شكل4-8): مراحل اصطناع الطاق المتلكئ.

- اكتشاف الأذية في جزيئة الدنا.
- يقوم إنزيم النُوكْلِياز (Nuclease) بقص الدنا المتأذي في نقطتين وإزالة الشدفة المتأذية.
- يملأ إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا بالنُوكْلِيُوتيدات المناسبة مكان النُوكْلِيُوتيدات التي تمت إزالتها.
- يربط إنزيم الليغاز بين نهايات النُوكْلِيُوتيدات، أي يشكل روابط فوسفودي استر بينها.



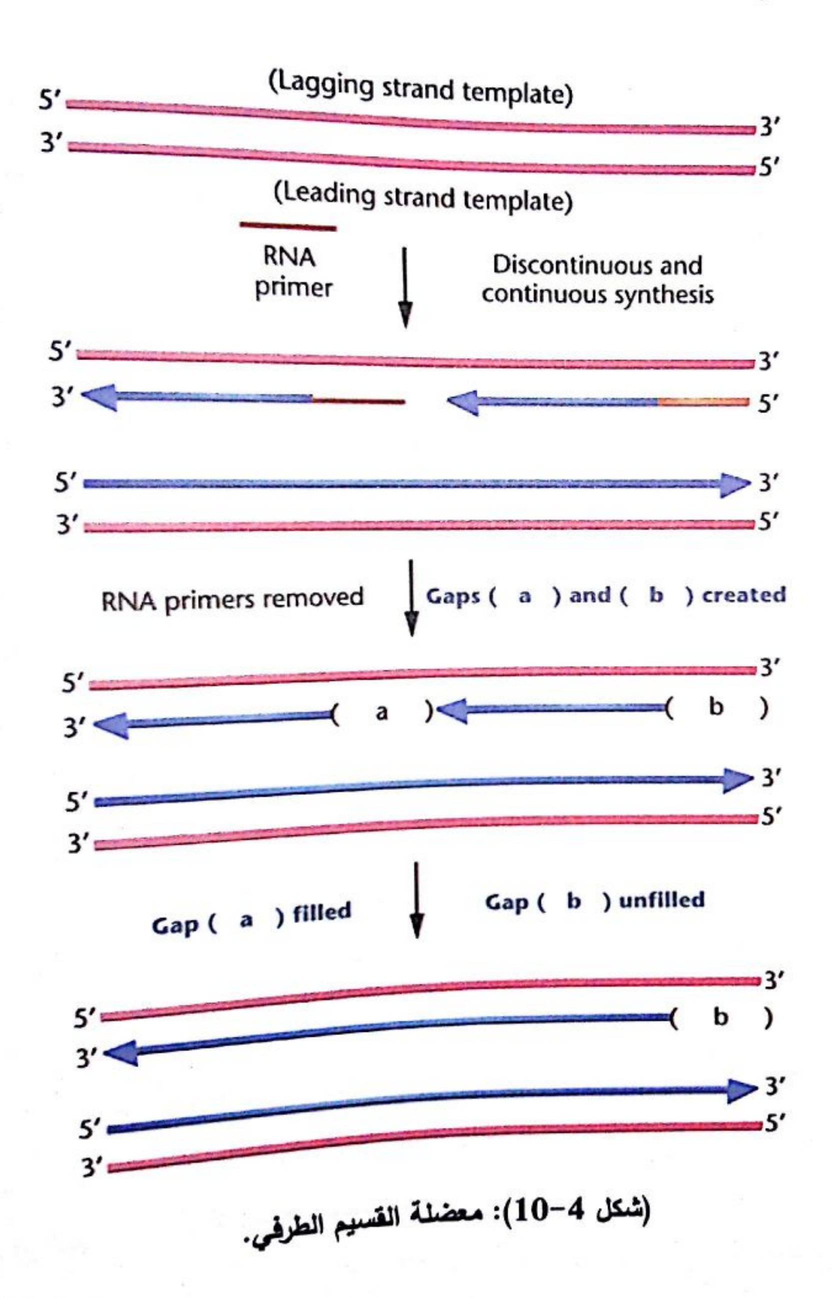
(شكل4–9): مراحل عمل جهاز إصلاح الدنا.

4.4. التنسّخ عند القسيم الطرفي (Replication at the Telomere)

ذكرنا سابقاً أن القسيم الطرفي يقع عند طرفي الصبغي، ويكثر فيه عند الثدييات تسلسل TTAGGG عند أحد الطاقين، وبالتأكيد سيكون التسلسل على الطاق المقابل AATCCC. يسمى الطاق الأول الطاق الغني بالغوانين والثاني الطاق الغني بالسيتوزين. بما أن بنية الصبغيات البشرية خطية، ومن ثم فإن نهاية الصبغي تمثّل نهاية طاقي الدنا، بكلام آخر ينتهي (أو يبدأ) الصبغي بطاق `5 وبطاق `3 (**شكل4-10**). عندما يحدث التنسّخ فإن الطاق الغني بالسيتوزين والذي يبدأ بـ `3 وينتهي بـ `5 سيكون هوالطاق المِرْصاف لتصنيع الطاق المباشر. أمّا بالنسبة للطاق المقابل (الطاق الغني بالغوانين) الذي يبدأ بـ `5 وينتهي بـ `3 فإنه هوالطاق المِرْصاف لتصنيع الطاق المتلكئ. يتم تصنيع الطاق المتلكئ على مراحل كما ذكرنا سابقاً، ولكن المشكلة تكمن أنه عندما يتم نزع المِشرَع المتوضع عند النهاية `3 فلن يتم ملء الفراغ وسيترك فجوة (Gap)، أي إن الطاق المتلكئ المصنّع حديثاً سيكون أقصر من الطاق المرصاف بحسب طول مِشرَع الرنا (**شكل 4-10**). وكلّما حدث انقسام خلوي واجهت الصبغيات المعضلة نفسها، وستصبح الصبغيات أقصر في الخلايا البنت (Daughter cells) المتولدة عن الانقسام حتى يطال النقص في طول الصبغيات المنطقة القريبة من القسيم الطرفي الحاوية على جينات، ويحدث حذف لهذه الجينات.

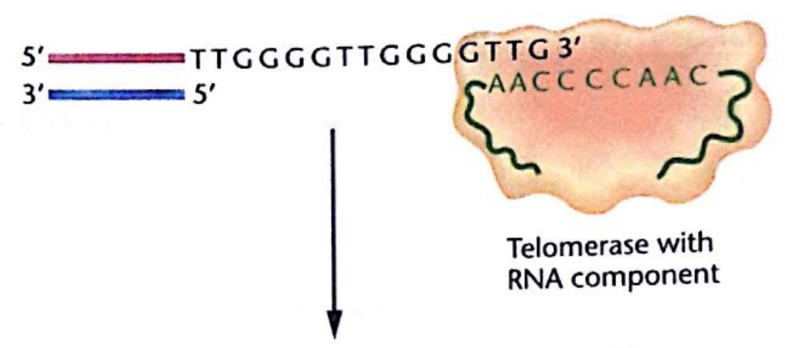
اكتشف إنزيم Telomerase لدى حقيقيات النوى كلٌّ من Elizabeth Blackburn و Carol Greider وهو الذي ساعد على فهم حل مشكلة التقصير (Shortening). وُجد أن الطاق الغني بالغوانين (G-rich strand) يمتد بشكل طاق مفرد يطلق عليه ذيل أحادي الطاق (single-stranded tail). يُوضِّح (**شكل 4-11**) آلية عمل إنزيم التيلوميراز عند الـ Tetrahymena (نوع من أنواع الأوالي). يحوي الذيل أحادي الطاق عدة تكرارات للتسلسل 5'-TTGGGG-3'. يحوي إنزيم Telomerase في بنيته على قطع صغيرة من تسلسلات الرنا وهي AACCCCAAC في Tetrahymena. تعمل هذه القطع كأداة إرشاد أو دليل (Guide) لضمان ارتباط إنزيم التيلوميراز مع القسيم الطرفي. وتعمل قطع الرنا هذه كمرصاف لاصطناع تكرار TTGGGG الموجود في طاق من الدنا. تُسمى عملية اصطناع طاق DNA ابتداءً من طاق RNA الانتساخ العكسي (Reverse transcription). كما يظهر في (**شكل4-11**) يتقابل جزء من الرنا الموجود في معقد إنزيم التيلوميراز مع بضعة نُوكْلِيُوتيدات موجودة في نهاية الذيل أحادي الطاق. يليها انتساخ عكسي لجزء من الرنا مما يؤدي لاستطالة الذيل أحادي الطاق. ينزاح معقد إنزيم التيلوميراز نحو اليسار، ويكرر العملية نفسها مؤدياً لزيادة في استطالة الذيل أحادي

الطاق. يأتي بعدها دور الإنزيمات الداخلة في تنسّخ الدنا، إذ تقوم كلٌّ من إنزيمات البريماز (Primase) وبُولِيمِيراز الدَّنا والليغاز باصطناع وملء الفجوة وفق الخطوات نفسها المذكورة سابقاً في آلية تنسّخ الدنا. نذكر في النهاية أن فعالية إنزيم التيلوميراز غائبة في الخلايا الجسدية (Somatic cells)، ومن ثم فإن الخلايا الجسدية تفقد القدرة على البقاء بعد عدة انقسامات. أما الخلايا الخبيثة (Malignant cells) فإنها تمتلك فعالية التيلوميراز (Telomerase activity)، وبهذه الآلية تُصبح خلايا خالدة (Immortalized cells).

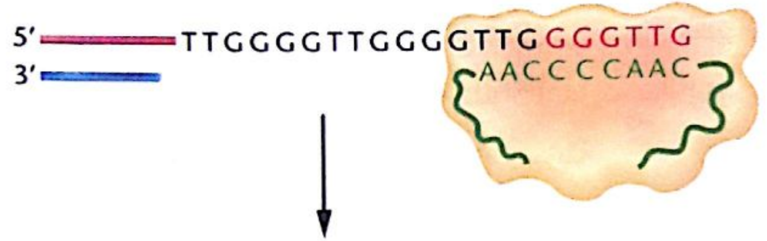


(شكل 4-10): معضلة القسيم الطرفي.

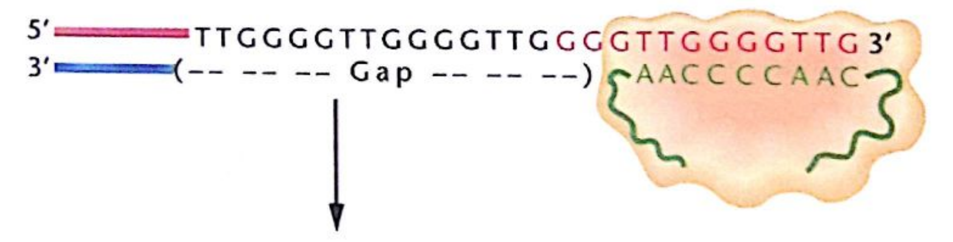




(b) Telomeric DNA is synthesized on G-rich tail



(c) Telomerase is translocated and steps (a) and (b) are repeated



(d) Telomerase released; primase and DNA polymerase fill gap



(e) Primer removed; gap sealed by DNA ligase

5′ TTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTG 3′
3′ AACCCCAACCCCAACCCCAACC 5′
Gap sealed

(شكل 4-11): آلية عمل إنزيم التيلوميراز لدى الـ Tetrahymena.

5.4. الفرق بين تنسّخ الدنا في حقيقيات النوى (Eukaryotes) وفي بدائيات النوى (Prokaryotes)

- تنسّخ الدنا أعقد في حقيقيات النوى منه في بدائيات النوى، وذلك بسبب احتواء خلايا حقيقيات النوى على كمية DNA أكبر من تلك الموجودة في الخلايا بدائية النوى، وكون الدنا في حقيقيات النوى يحمل بين ثناياه بروتينات (الهيستونات).
- تصطنع إنزيمات بُولِيمِيراز الدَّنا الدنا في حقيقيات النوى بمعدل أبطأ بخمس وعشرين مرة مقارنةً أنزيمات بُولِيمِيراز الدَّنا الموجودة في بدائيات النوى. ولتفادي التأخير في عملية تنسّخ الدنا تمتلك حقيقيات النوى الكثير من مواضع منشأ التنسّخ تصل في مجين الثدييات إلى 25000 موضع.
- تحوي بدائيات النوى مثل الإِشْرِيكِيَّة القولونِيَّة نحو 15 جزيئة من إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا الثالث، فيما قد يصل العدد في خلايا الثدييات إلى عشرة آلاف جزيئة.
- تستعمل خلايا حقيقيات النوى أنواعاً مختلفة من إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا (يصل لدى الإنسان إلى 14 نوعاً) بينما لدى بدائيات النوى أنواع إنزيم بُولِيمِيراز الدَّنا أقل.
- شُدف أوكازاكي لدى حقيقيات النوى أصغر من مثيلاتها في بدائيات النوى.

الفصل الخامس

الانتساخ

Transcription

المحتويات Contents

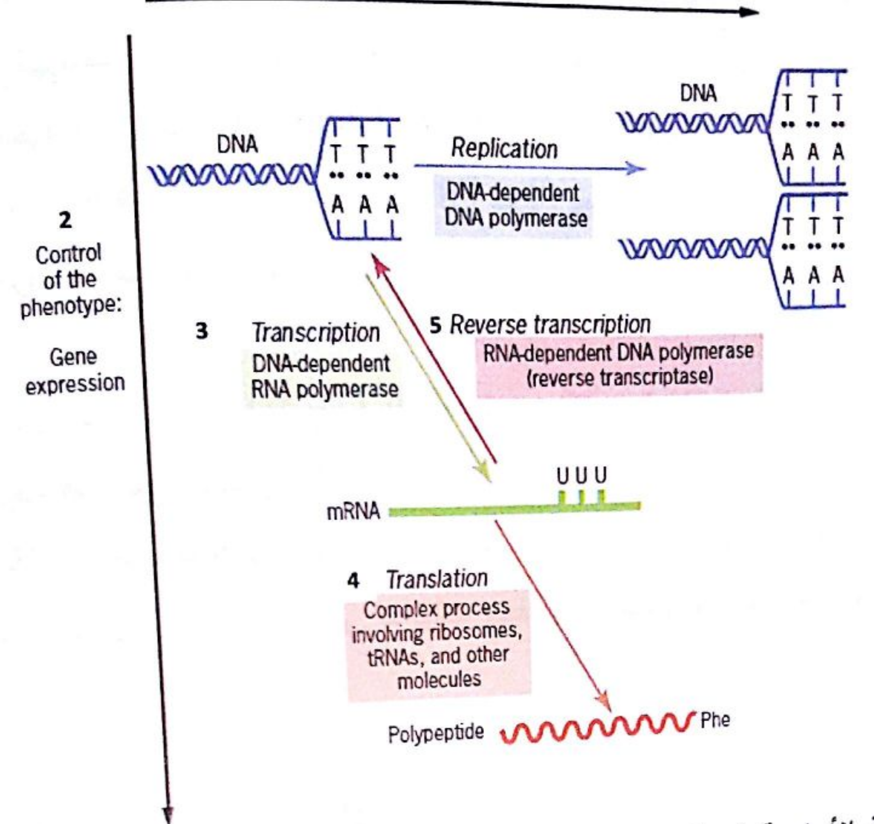
نعيش اليوم في عصر تكنولوجيا المعلومات التي تؤثر في كل مناحي حياتنا، إذ يمكن لأجهزة الحاسوب أن تخزّن وتسترجع وتحلّل المعلومات بسرعة البرق. ويتألف "دماغ" الحاسوب من رقاقة مصنوعة من السيليكون الحاوية على دارات كهربائية معقدة ومتداخلة قادرة على الاستجابة آنياً لمحرّضات من الطاقة. وفي عملها المدهش، تستخدم الحواسيب رامِزاً ثنائياً Binary Code، كلغة تتألف من مجموعة أصفار 0s ومجموعة واحدات 1s بالمقارنة مع اللغة العربية التي تستخدم 28 حرفاً. وبكل وضوح، وإذا ما استطاعت الحواسيب أن تنجز أعمالها الساحرة باستخدام رامِز مكوّن من حرفين فقط، فما بالنا باللغات التي تستخدم أحرفاً وشيفرات أطول وأكثر تعقيداً.

نجيب في هذا الفصل عن سؤالين أساسيين؛ الأول: كيف تُكتَب المعلومات الجينية في المخلوقات الحية باستخدام أربعة أحرف فقط هي الأسس الأربعة للدنا، والثاني: كيف يُمكن التعبير عن هذه المعلومات الجينية خلال نمووتطور الكائن الحي، مركّزين بالطبع على الدور المفتاحي لجزيئات الرنا في عملية التعبير الجيني. كما سنميّز في هذا الفصل بين الانتساخ في بدائيات وحقيقيات النوى، مبرزين التشابهات والاختلافات فيما بينها.

1.5. المسلّمة الأساسية Central Dogma

تبعاً للمسلّمة الأساسية للبيولوجيا الجزيئية، تَعبُر المعلومات الجينية من الدنا إلى الدنا عبر الأجيال، كما تعبر من الدنا إلى البروتين خلال ما يدعى بالتعبير الجيني Gene Expression (الشكل 5-1). وخلال تضاعف الفيروسات، يمكن أن تنتقل المعلومات أيضاً من الرنا إلى الرنا.

يتطلّب نقل المعلومات الجينية من الدنا إلى البروتين خطوتين؛ الأولى: الانتساخ Transcription، وهي نقل المعلومات الجينية من الدنا DNA إلى الرنا RNA، والثانية: الترجمة Translation، أو نقل المعلومات من الرنا إلى البروتين. إضافةً لذلك، قد تنتقل المعلومات أحياناً من الرنا RNA إلى الدنا DNA خلال قلب Conversion مجينات بعض الفيروسات المؤلفة من الرنا إلى مقابلاتها من جزيئات الدنا، وهو ما يطلق عليه الانتساخ العكسي Reverse Transcription. وهكذا، يمكن لنقل المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا أن يصبح عكوساً، بينما يكون نقلها من الرنا إلى البروتين دائماً باتجاه واحد غير عكوس.



(الشكل 5-1) المسلّمة الأساسية في البيولوجيا الجزيئية. 1) تعبر المعلومات الجينية من جيل خلوي إلى آخر عبر تضاعف الدنا بتواسط بوليميراز الدنا المعتمد على الدنا. 2) يعكس النمط الظاهري Phenotype للكائن الحي التعبير الجيني في خلاياه. 3) تُنقَل المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا بعملية الانتساخ Transcription بتواسط بوليميراز الرنا المعتمد على الدنا. 4) تُنقل المعلومات من الرنا إلى البروتينات بعملية الترجمة Translation. 5) يمكن للمعلومات أن تُنقل في بعض الفيروسات من الرنا إلى الدنا بعملية الانتساخ العكسي Reverse Transcription بتواسط بوليميراز الدنا المعتمد على الرنا أو ما يدعى إنزيم الناسخة العكسية Reverse Transcriptase.

تدعى جزيئات الرنا التي تتم ترجمتها في الريباسات بجزيئات الرنا المرسال Messenger RNA أو(mRNAs). وفي بدائيات النوى، يكون الجزيء المنتج الأولي للانتساخ، المُنْتَسَخ الأولي Primary Transcript أو الرنا المرسال البدئي Primary mRNA، مطابقاً تماماً للرنا المرسال الناضج Mature mRNA القابل للترجمة (الشكل 5-a2). أما في حقيقيات النوى، فيخضع الرنا المرسال البدئي إلى عمليات عدّة تضم قَطْع (شطر) بعض التتاليات وتعديل نهايتَي الرنا المرسال قبل أن تتم ترجمته، حيث يمثّل الرنا البدئي في حقيقيات النوى طليعةً فقط للرنا المرسال الناضج (الشكل 5-b2).

تحتوي معظم جينات حقيقيات النوى على تتاليات غير مرمّزة Non-coding Sequences تدعى بالإنترونات Introns تفصل ما بين تتاليات مرمّزة Coding يتم التعبير عنها تدعى الإكسونات Exons. وهكذا، في بداية انتساخ جينات حقيقيات النوى يتم انتساخ كامل التتاليات النوكليوتيدية في الجين وتتحول إلى طليعة الرنا المرسال الذي يخضع لاحقاً إلى عملية تدعى بالتضفير Splicing التي تزيل الإنترونات، وتُبقي على الإكسونات في جزيئات الرنا المرسال الناضج لتتم لاحقاً ترجمته في هيولى الخلية.

يصطنع الرنا عبر آلية مشابهة لآلية اصطناع الدنا (خلال تضاعف الدنا، انظر الفصل الرابع)، فيما عدا:

- تكون ركائز التفاعل هي نوكليوتيدات ريبية تحتوي على هيدروكسيل في الكربون `2 للريبوز، بدلاً من النوكليوتيدات منقوصة الأكسجين الداخلة في اصطناع الدنا.
- يستخدم طاق أو شريط واحد من الدنا كمرصاف Template لاصطناع سلسلة الرنا المتممة للتتاليات النوكليوتيدية في جزيء الدنا.
- يمكن لسلسلة الرنا أن تبدأ دون الحاجة لوجود مشارع Primers، كما هو الحال في اصطناع الدنا الذي يحتاج إلى ذلك.

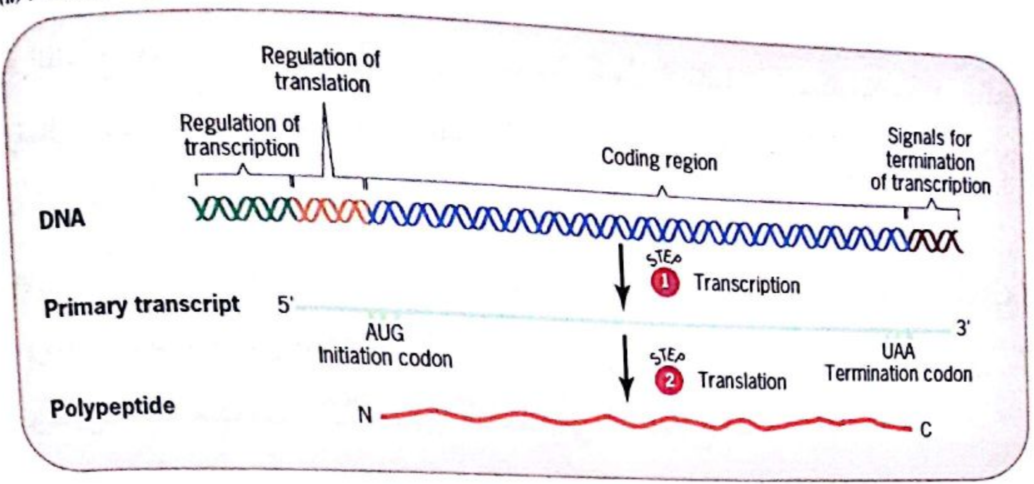
يكون جزيء الرنا المنتج متمّماً ومعاكساً بالقطبية لطاق الدنا المرصاف، ومطابقاً بالتتاليات والقطبية (فيما عدا وجود الأكسجين في الموقع `2 للريبوز) لطاق الدنا غير المرصاف Non-template (الشكل 5-3).

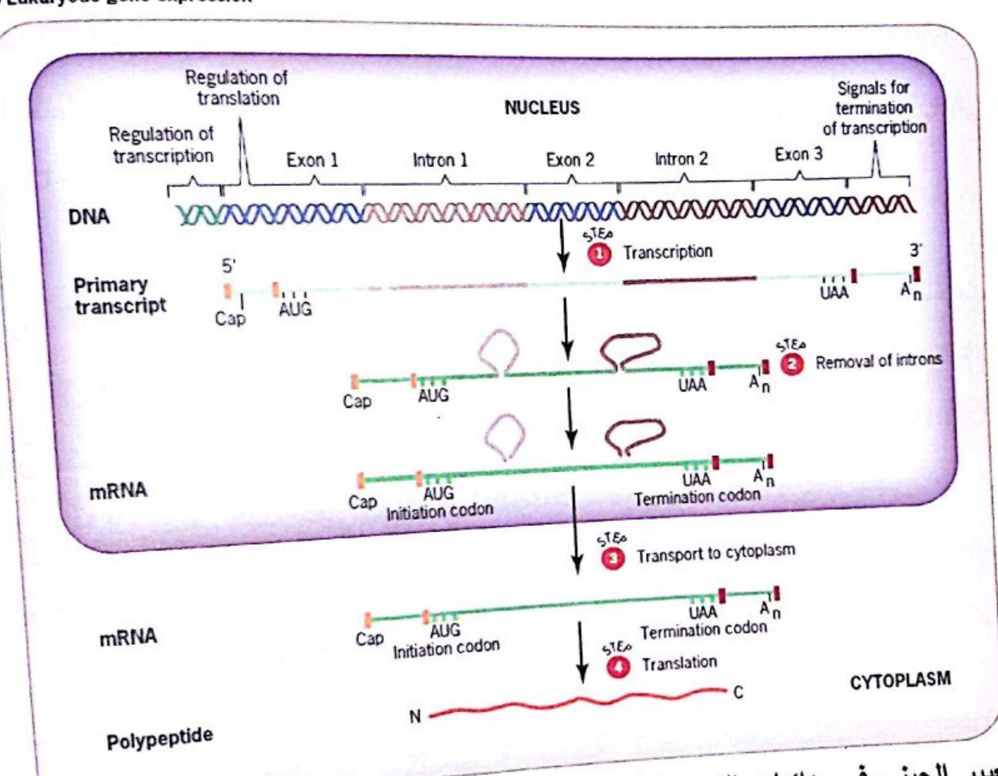
وهكذا، يمكننا أن نشير إلى طاق الدنا المرصاف أنه الطاق المُنْتَسخ Transcribed Strand للجين، ولطاق الدنا غير المرصاف أنه طاق الدنا غير المُنْتَسخ Non-transcribed Strand للجين.

تصطنع سلاسل الرنا، كمثيلاتها في الدنا، في الاتجاه `5 إلى `3. ويضم التفاعل هجوم هيدروكسيل الكربون `3 للريبوز في نوكليوتيد الرنا على مجموعة الفوسفات على الكربون `5 في النوكليوتيد التالي ضمن السلسلة (الشكل 5-4)، ويتواسط هذا التفاعل إنزيم بوليميراز الرنا RNA Polymerase.

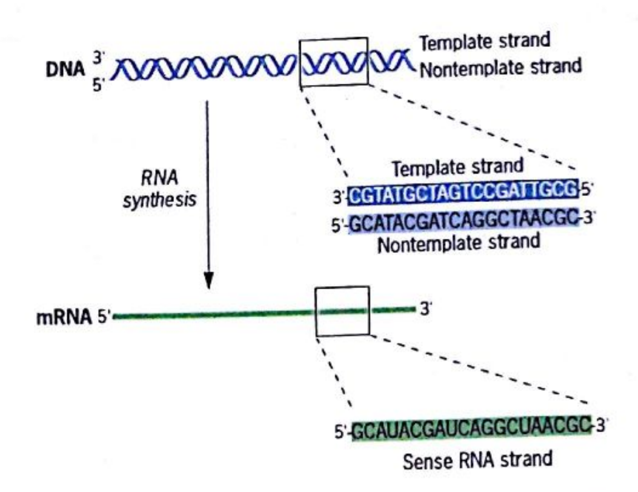
يرتبط بوليميراز الرنا إلى تتاليات نوكليوتيدية نوعية تدعى المحضضات Promoters وتعمل، أحياناً بمساعدة بروتينات تدعى عوامل الانتساخ Transcription Factors، على البدء باصطناع جزيئات الرنا عند مواقع بدء الانتساخ القريبة من المحضضات. تكون المحضّضات في حقيقيات النوى أكثر تعقيداً منها في بدائيات النوى. وبينما يقوم بوليميراز رنا وحيد بانتساخ جزيئات الرنا في معظم بدائيات النوى. ثمّة خمسة أنواع من بوليميراز الرنا في حقيقيات النوى، كل منها مسؤول عن اصطناع صنف محدّد من الرنا.

يحصل اصطناع الرنا عند قطعة من الدنا منفكّة الطاقين تدعى بفقاعة الانتساخ Transcription Bubble، تنشأ بفعل بوليميراز الرنا نفسه (الشكل 5-a5).

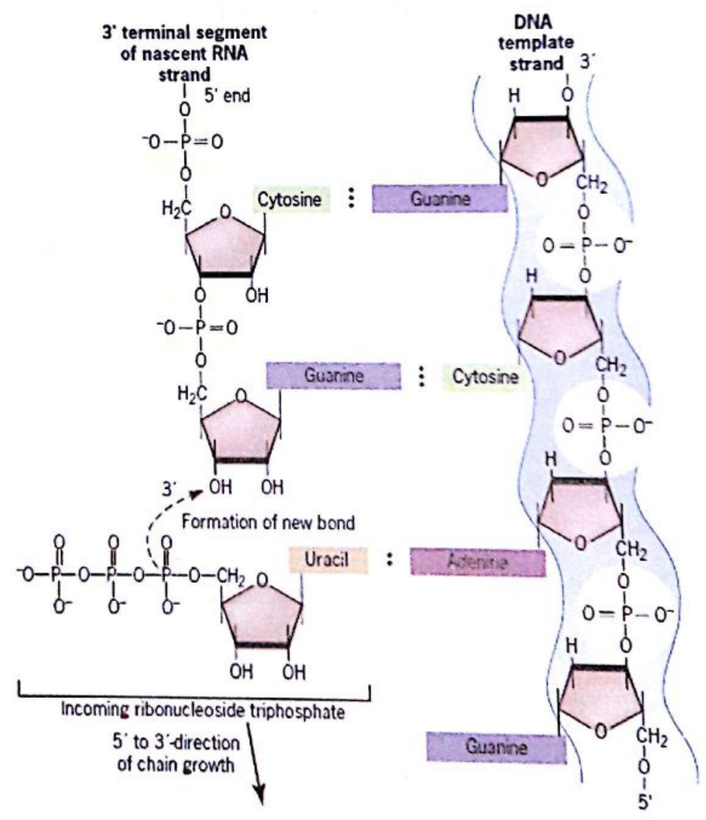




(الشكل 5-2) التعبير الجيني في بدائيات النوى (a) وحقيقيات النوى (b). في بدائيات النوى (a) يكون المنتسخ الأولي للجين قابلاً للترجمة مباشرة على الريباسات، أما في حقيقيات النوى (b) فيخضع المنتسخ الأولي إلى ثلاث عمليات لإنضاجه قبل خروجه من النواة إلى هيولى الخلية هي: إضافة قلنسوة إلى النهاية `5 وذيل من عديد الأدنين إلى النهاية `3 وشطر الإنترونات وتضفير الإكسونات.



(الشكل 5-3) يبيّن معنى الطاق المرصاف Template Strand والطاق غير المرصاف Nontemplate Strand للدنا، إذ يماثل تسلسل الرنا المنتسخ تسلسل الطاق غير المرصاف (عدا استبدال U والريبوز في RNA بدلاً من T والريبوز منقوص الأكسجين في DNA)، بينما يكون الرنا المنتسخ متمّماً Complementary لتسلسل الطاق المرصاف للدنا.



(الشكل 5-4) الجزيء المضاعف المتغاير Heteroduplex الناجم عن الارتباط المؤقت بين الطاق المرصاف للدنا مع سلسلة الرنا الناشئة (تظهر هنا النهاية `3 للسلسلة الناشئة). ويلحظ اتجاه الانتساخ `5 إلى `3 حيث تكون النهاية الحرة

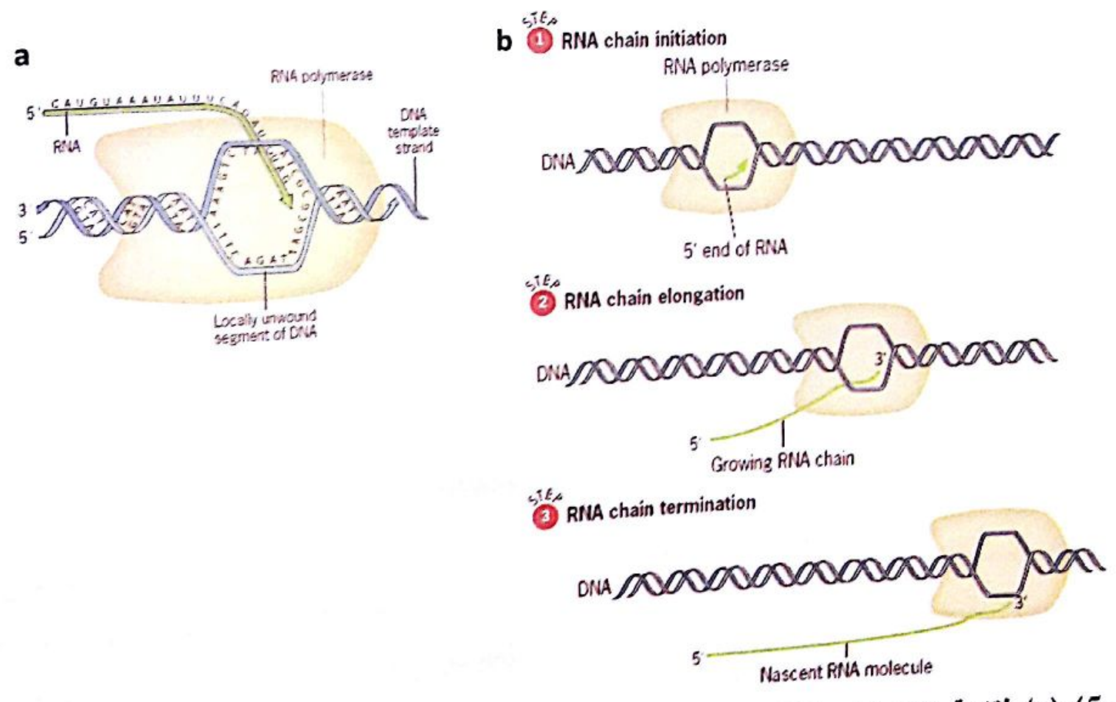
لسلسلة الرنا في الأعلى هي الفسفات، وتكون النهاية في الأسفل هي الهيدروكسيل. يلحظ تشكيل روابط هيدروجينية مؤقتة بين النوكليوتيدات المتتامّة G – C، وA – U.

وسنفصل فيما يأتي حادثة الانتساخ في كل من بدائيات وحقيقيات النوى.

2.5. الانتساخ في بدائيات النوى Transcription in Prokaryotes

تكون الخصائص الأساسية للانتساخ هي نفسها في كل من بدائيات وحقيقيات النوى، لكن مع اختلاف الكثير من التفاصيل. وقد درس بوليميراز الرنا لجراثيم الإشريكية القولونية E. coli بشكل مكثّف وستتم مناقشته هنا، وهويحفّز اصطناع جميع أنواع الرنا في هذا النوع. تدعى قطعة الدنا التي تُنتسخ لإعطاء جزيء رنا واحد بالوحدة الانتساخية Transcription Unit. مع ذلك، ففي الكثير من أنواع الجراثيم توجد الكثير من جزيئات الرنا الكبيرة التي تحمل التتاليات المرمّزة لأكثر من جين.

يُمكِن تجزئة عملية الانتساخ إلى ثلاث مراحل: 1) البدء باصطناع سلسلة الرنا، 2) إطالة السلسلة، و3) إنهاء الانتساخ وتحرير جزيء الرنا الناشئ (الشكل 5–5 b).



(الشكل 5–5) (a) فقاعة الانتساخ Transcription Bubble الناتجة عن تفكك طاقي الدنا في منطقة صغيرة بتواسط إنزيم بوليميراز الرنا، ويظهر أن القسم الأعظم من جزيء الرنا المنتسخ يمتدّ خارج المعقّد حيث لا يتجاوز طول قطعة الرنا

المرتبطة بالطاق المرصاف عدة نوكليوتيدات فقط. (b) المراحل الثلاث للانتساخ: 1) البدء Initiation، 2) الإطالة Elongation، 3) الإنهاء Termination.

ملاحظة: لدى مناقشة الانتساخ، يستعمل المصطلحان "صُعُداً Upstream" و"نُزُلاً" Downstream للدلالة على المناطق التي تقع باتجاه النهاية `5 والنهاية `3، على التوالي، نسبةً لموقع معيّن في جزيء الرنا المنتسخ. ويعتمد هذان المصطلحان على حقيقة أن اصطناع الرنا يحدث دائماً بالاتجاه `5 إلى `3. بالمقابل، تكون المناطق صُعُداً ونُزُلاً لجين معيّن هي تتاليات الدنا التي تحدّد القطع `5 (قبل) و`3 (بعد) لجزيء الرنا المنتسخ عن الجين نسبةً لموقع معيّن داخل الجين.

إنّ بوليميراز الرنا هو بروتين معقّد متعدد الأجزاء Multimeric. يبلغ الوزن الجزيئي لبوليميراز الرنا في جراثيم E. coli نحو 480,000 دالتون ويتألف من خمس وُحَيْدات Subunits، اثنتان منهما متطابقتان، هي $\alpha_2\beta\beta`\sigma$ (اثنتان ألفا، وبيتا، وبيتا فتحة، وسيغما)، التي تشكّل مجمل الإنزيم Holoenzyme. تساعد الوُحَيْدتان ألفا في تشكيل المعقّد الرباعي $\alpha_2\beta\beta`$، بينما تحتوي الوُحَيْدة β على موقع الارتباط بالنكليوزيد الريبي ثلاثي الفسفات، وتمتلك الوُحيْدَة σ المنطقة الرابطة للدنا المرصاف. تنخرط الوُحَيْدة سيغما فقط في بدء الانتساخ، ولا تؤدي أي دور في طور الإطالة. فبعد بدء الانتساخ مباشرة تتحرر الوُحَيْدة سيغما وتتواسط الوُحيدات $\alpha_2\beta\beta`$ إطالة السلسلة. وهكذا، تكون مهمة الوُحيدة سيغما هي في التعرف على المحضّض وتوجيه بقية إنزيم بوليميراز الرنا للارتباط به.

1.2.5. طور البدء في بدائيات النوى Initiation Phase in Prokaryotes

تكتنف طور البدء ثلاث خطوات: 1) ارتباط كامل إنزيم بوليميراز الرنا، أوHoloenzyme، إلى منطقة المحضّض في الدنا؛ 2) فك ارتباط طاقي الدنا بتواسط إنزيم بوليميراز الرنا نفسه، حيث يولّد ذلك طاقاً حرّاً من الدنا المرصاف يكون ركيزةً للبدء في اصطناع طاق الرنا المتمم له والمعاكس بالقطبية عبر رصف النوكليوتيدات الريبية Ribonucleotides؛ 3) تشكيل الروابط الفسفورية ثنائية الإستر Phosphodiester بين النوكليوتيدات الريبية القليلة الأولى في سلسلة الرنا الجديدة.

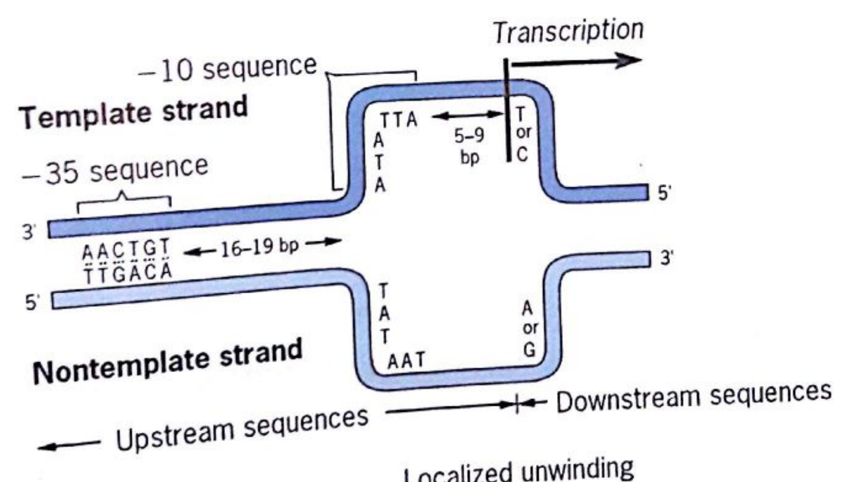
يبقى مجمل الإنزيم Holoenzyme مرتبطاً في منطقة المحضّض خلال اصطناع سلسلة مؤلفة من 8 إلى 9 نوكليوتيدات رنا، وبعدها يتحرر العامل سيغما ويشرع الإنزيم $\alpha_2\beta\beta`$ بطور الإطالة.

ملاحظة: اصطلاحاً، يتم ترقيم النوكليوتيدات قرب وحدة الانتساخ نسبةً لموقع بدء الانتساخ، الذي يرقّم 1+، وهو أول نوكليوتيد في النهاية `5 لسلسلة الرنا الناتج عن الانتساخ. تُعطى النوكليوتيدات السابقة لموقع البدء إشارة سالبة (−) وتلك

التي تلي موقع البدء إشارة موجبة (+). ويشار إلى تتاليات النوكليوتيدات السابقة لموقع البدء بالتتاليات صُعُداً Upstream، وتلك التي تلي موقع البدء بالتتاليات نُزُلاً Downstream.

حُدّد التتالي النوكليوتيدي لمئات من المحضّضات في صبغي E. coli. وبينما لا تتشابه هذه التتاليات فيما بينها كثيراً، يبدو أن منطقتين متماثلتين في جميع المحضّضات كافيتان لتعرّف وارتباط الوُحَيْدة سيغما والشروع بالانتساخ (الشكل 5-6). تقع النوكليوتيدات التي تتوسّط كل من المنطقتين في الموقع 10- و35- نسبةً لموقع بدء الانتساخ، لذا، وفي كثير من الأحيان تدعى هاتان المنطقتان بالمنطقة 10- والمنطقة 35-. وعلى الرغم من وجود بعض الاختلافات في تتاليات النوكليوتيدات في كل من هاتين المنطقتين فيما بين مئات المحضّضات، تتشارك كل منطقة منهما مع مثيلاتها في المحضّضات الأخرى ببعض النوكليوتيدات المُصانة Conserved Nucleotides، حيث تدعى هذه التتاليات المتماثلة بالتتاليات المُصانة Consensus Sequences.

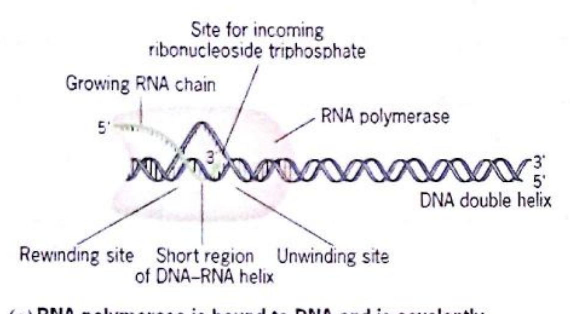
يكون التتالي المُصان في المنطقة 10- من الطاق غير المرصاف Non-template Strand هوTATAAT، والتتالي المُصان في المنطقة 35- هو TTGACA. تتعرف الوُحَيْدة سيغما أولاً وترتبط على التتالي 35-، بينما يسهّل التتالي 10- الغني بالأدنين والثايمين عملية فك ارتباط طاقي الدنا (بسبب كون عدد الروابط الهيدروجينية بين A وT هو اثنان فقط).



(الشكل 5-6) منطقة المحضّض في بدائيات النوى وبدء تشكيل فقاعة الانتساخ. وتظهر التتاليات في المنطقتين 35- (TTGACA) و10- (TATAAT) في الطاق غير المرصاف من الدنا، بينما يظهر موقع بدء الانتساخ في الطاق المرصاف ويكون عادةً إما T أوC. تدعى التتاليات السابقة لموقع بدء الانتساخ بالتتاليات صُعُداً Upstream والتتاليات اللاحقة لموقع البدء بالتتاليات نُزُلاً Downstream.

2.2.5. طور الإطالة في بدائيات النوى Elongation Phase in Prokaryotes

يحتوي بوليميراز الرنا على فعالية تفكيك Unwinding وإعادة ربط Rewinding لطاقي الدنا. وبشكل مستمر، يقوم بوليميراز الرنا بتفكيك طاقي الدنا أمام موقع الانتساخ وإعادة ربطهما خلف موقع الانتساخ خلال مسيره على جزيء الدنا (الشكل 5-7). يكون متوسط طول فقاعة الانتساخ في جراثيم E. coli نحو 18 زوجاً نوكليوتيدياً، حيث تتم إضافة نحو 40 نوكليوتيداً ريبياً في كل ثانية إلى سلسلة الرنا المتشكّلة المتزايدة في الحجم. إن ارتباط نوكليوتيدات الرنا المصنّعة مع نوكليوتيدات دنا المرصاف المتمّمة لها هو ارتباط ضعيف، إذ لا ترتبط سلسلة الرنا المتشكّلة بالدنا المرصاف لوقت طويل بل تنفكّ عنها وتبرز إلى خارج فقاعة الانتساخ، ولا تبقى سوى بضعة نوكليوتيدات من الرنا مرتبطة بشكل مؤقت مع النوكليوتيدات المتمّمة لها في طاق الدنا المرصاف في أي مرحلة من عملية الإطالة.



(a) RNA polymerase is bound to DNA and is covalently extending the RNA chain.

(b) RNA polymerase has moved downstream from its position in (a), processively extending the nascent RNA chain.

(الشكل 5-7) مرحلة إطالة الانتساخ. وتبدوحركة إنزيم بوليميراز الرنا نُزُلاً Downstream نسبةً إلى موقع بدء الانتساخ وبالاتجاه `5 إلى `3 لسلسلة الرنا المنتسخة.

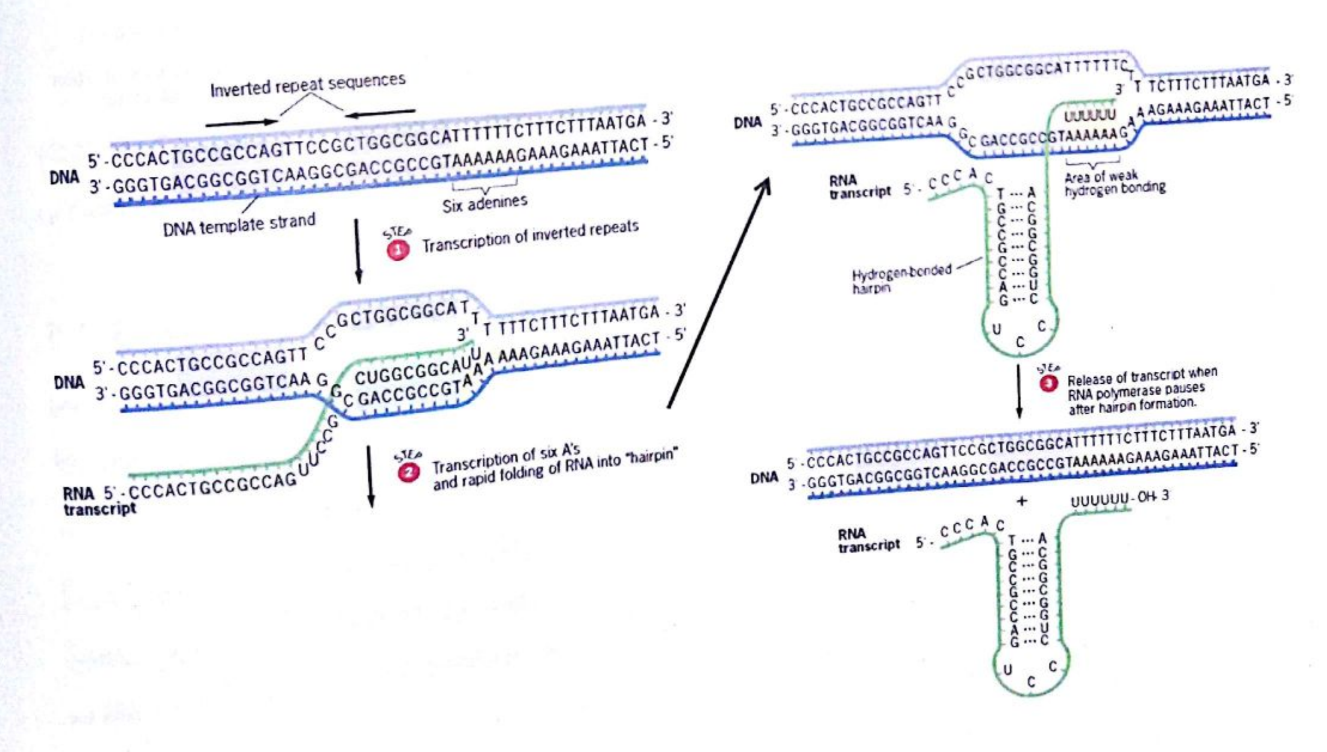
3.2.5. طور الإنهاء في بدائيات النوى Termination Phase in Prokaryotes

يحصل إنهاء الانتساخ حين تصل سلسلة الرنا المتشكّلة إلى ما يدعى إشارة الإنهاء Termination Signal، حيث يتفكك معقّد الانتساخ محرّراً جزيء الرنا.

هنالك نمطان من منهيات الانتساخ Transcription Terminators في جراثيم E. coli؛ يؤدي أحدهما إلى الانهاء فقط بوجود عامل بروتيني يدعى العامل Rho (أو ρ)، ولذلك يدعى بالإنهاء المعتمد على العامل Rho أو Rho-dependent Termination، بينما لا يتطلب النمط الآخر العامل Rho ويكون مستقلاً عنه Rho-independent Termination.

تحتوي المُنهِيات المستقلّة عن العامل Rho منطقة غنية بالغوانين والسيتوزين GC-rich Region تتبعها ستة نوكليوتيدات أو أكثر من تتاليات الأدنين والثايمين، حيث يكون الأدنين في الطاق المرصاف (الشكل 5-8). يحتوي التسلسل الغني بـ GC على تتاليات مقلوبة (أي تتاليات نوكليوتيدية توجد في كل طاق على حدة تكون مقلوبة ومتتامّة). ولدى انتساخ تتاليات الدنا هذه، ينتج عنها طاق رنا يحتوي على التتاليات المقلوبة التي تتشافع فيما بينها داخل الطاق نفسه مشكّلة بنية تدعى ببنية ملقط الشعر Hairpin Structure. تتشكّل بنية ملقط الشعر مباشرةً بعد اصطناع هذه المنطقة، وتؤخّر حركة جزيء بوليميراز الرنا على طول الدنا المرصاف، مما يؤدي إلى إيقاف الإطالة. وعلى اعتبار التتاليات اللاحقة لهذه المنطقة غنيّة بـ AU، ومن ثم فقيرة بالروابط الهيدروجينية فيما بين الرنا ومرصاف الدنا، يمكن للرنا عندها أن ينفك عن الدنا المرصاف محرّراً نفسه من معقّد الانتساخ ومنهياً بذلك عملية الانتساخ نفسها.

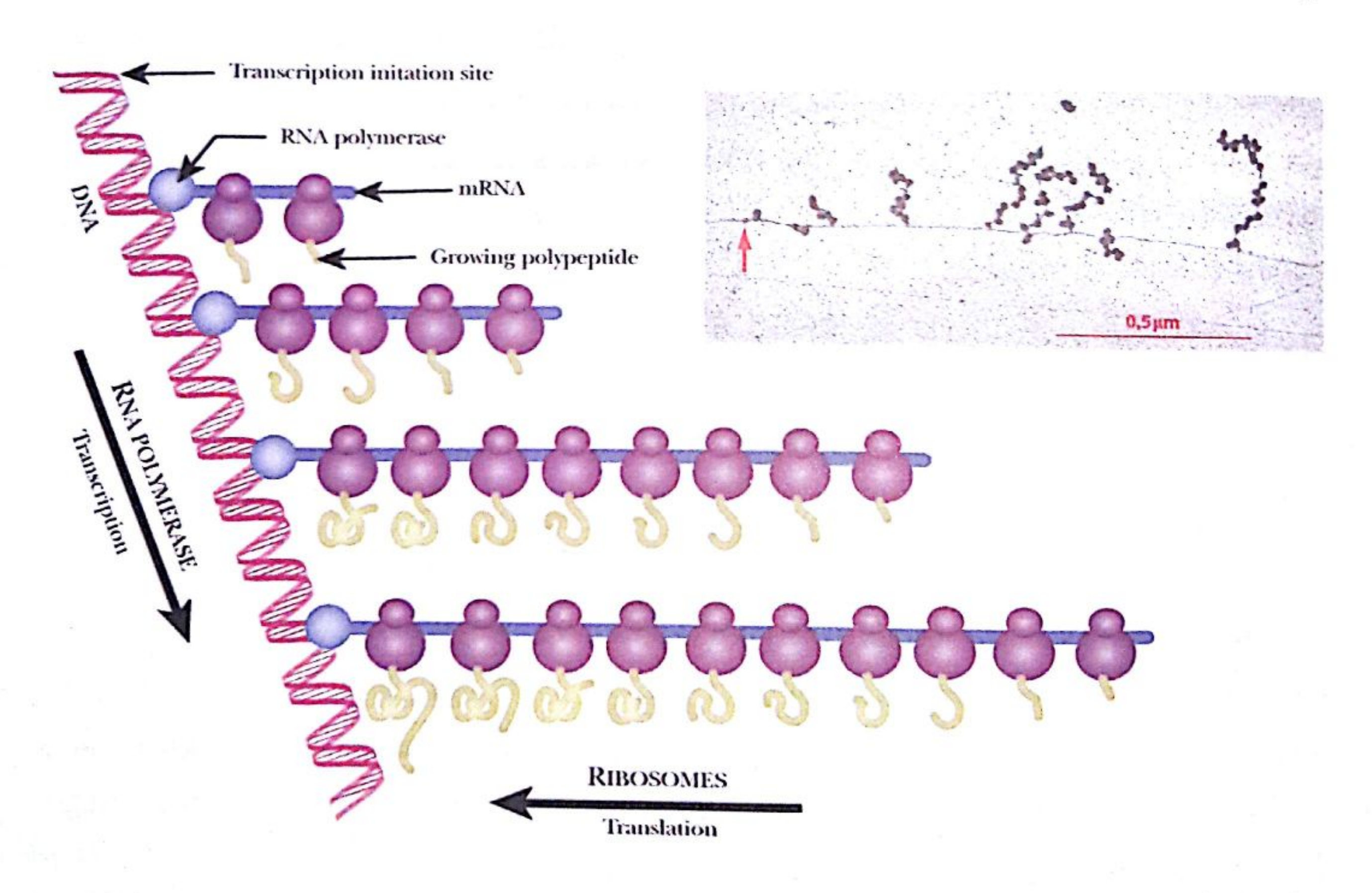
يكون إنهاء الانتساخ المعتمد على العامل Rho مماثلاً لما سبق، وتتشكّل أيضاً بنية ملقط الشعر صُعُداً بالنسبة لموقع إنهاء الانتساخ. مع ذلك، يكون الاختلاف هو في ارتباط العامل Rho بجزيء الرنا في موقع سابق "صُعُداً" بالنسبة لبوليميراز الرنا، حيث يتحرك العامل Rho وراء بوليميراز الرنا على طول سلسلة الرنا المتشكّلة بالاتجاه `5 إلى `3. وحين يصل بوليميراز الرنا إلى بنية ملقط الشعر السابق ذكرها يتوقف ليلحق به العامل Rho ويقوم بتفكيك الروابط الهيدروجينية المؤقتة بين جزيئي الرنا والدنا محرراً بذلك الرنا من معقد الانتساخ.



(الشكل 5-8) إنهاء الانتساخ المستقل عن العامل Rho. تلاحَظ التسلسلات المصونة في طاق الدنا المرصاف التي لدى انتساخها تشكّل في جزيء الرنا المنتسخ تسلسلات متقابلة ومتممة بعضها لبعض ترتبط لتشكّل بنية ملقط الشعر. كما يلاحظ وجود عدد من نوكليوتيدات اليوراسيل المتتالية نُزُلاً نسبةً لبنية ملقط الشعر، وتؤدي إلى سهولة تحرّر جزيء الرنا من الدنا المرصاف وإنهاء الانتساخ.

4.2.5. تزامن الانتساخ والترجمة وتدرّك الرنا المرسال في بدائيات النوى

في بدائيات النوى، تبدأ عمليتا الترجمة وتدرّك الرنا المرسال المصطنع غالباً قبل أن ينتهي انتساخ الرنا نفسه. وحيث إنّ اصطناع جزيئات الرنا المرسال وترجمتها وتدرّكها، كل ذلك يحصل بالاتجاه `5 إلى `3، يمكن لهذه الأحداث أن تتزامن على نفس جزيء الرنا. ومن المهم التذكير أنه في بدائيات النوى لا يوجد أي فصل بين الهيولى وجزيء الدنا لغياب النواة والغلاف النووي. وهكذا، وبمجرّد أن تُصطنَع النهاية `5 من جزيء الرنا فإنها تُستخدَم كمرصاف لاصطناع البروتين. في الواقع، يقترن ويتزامن الانتساخ والترجمة بشكل مذهل في بدائيات النوى، وقد أظهرت ذلك بعض الصور الملتقطة باستخدام المجهر الإلكتروني (الشكل 5-9).



(الشكل 5-9) تزامن الانتساخ والترجمة في بدائيات النوى. مع ازدياد طول سلسلة الرنا المنتسخ تبدأ الريباسات بالالتصاق على النهاية `5 لجزيء الرنا وتشرع بترجمته لتسير بالاتجاه `5 إلى `3 لجزيء الرنا مع ازدياد طول عديد الببتيد المتشكل. يظهر في الشكل (أعلى يمين) صورة مجهرية إلكترونية تبيّن توضّع الريباسات على جزيئات الرنا المنتسخة، حيث يبدو واضحاً ازدياد طول قطع الرنا المنتسخة من اليسار إلى اليمين. يشير السهم الأحمر إلى موقع بدء الانتساخ.

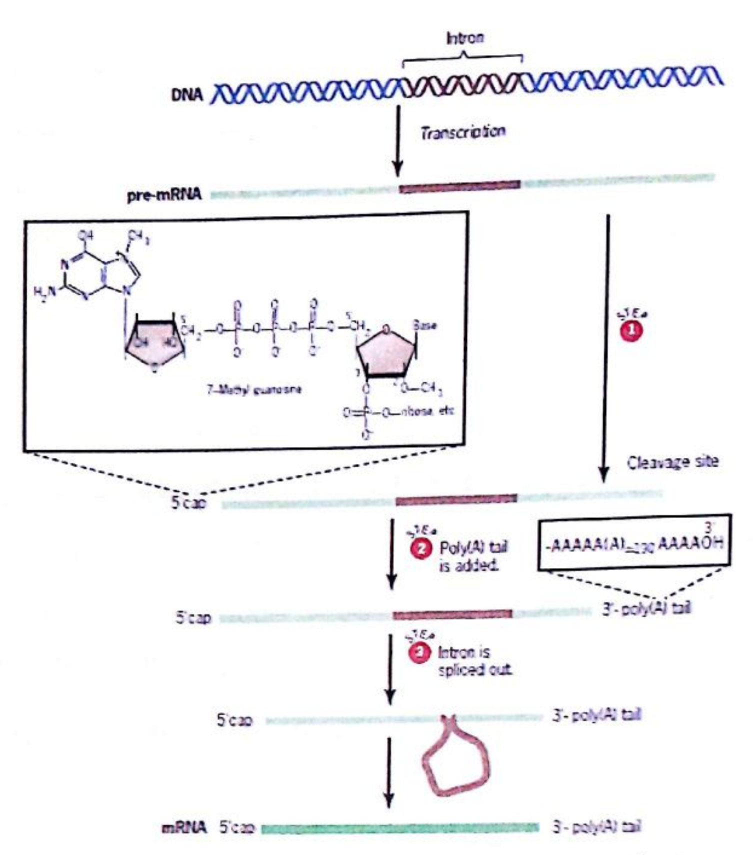
3.5. الانتساخ ومعالجة الرنا في حقيقيات النوى

Transcription & RNA Processing in Eukaryotes

على الرغم من أن اصطناع الرنا متماثل في بدائيات وحقيقيات النوى، إلا أنه أكثر تعقيداً إلى حدّ بعيد في الأخيرة. ففي حقيقيات النوى، يصطنع الرنا في النواة، ثم تُنقل جزيئات الرنا المرسال التي ترمّز البروتينات إلى هيولى الخلية حيث تتم ترجمتها على الريباسات.

كثيراً ما تحتوي جزيئات الرنا المرسال في بدائيات النوى على المناطق المرمّزة لجينتين أو أكثر، وتدعى جزيئات الرنا هذه بمتعددة الجينات Multigenic. على العكس من ذلك، فإن الغالبية العظمى من المُنْتَسخات Transcripts (أي نواتج الانتساخ) تحتوي في حقيقيات النوى المنطقة المرمّزة لجين واحد لا غير، وهي بذلك وحيدة الجين Monogenic.

توجد خمسة أنواع من بوليميرازات الرنا في حقيقيات النوى، يحفّز كلٌّ منها انتساخ صنف محدد من الجينات. إضافةً لذلك، تخضع معظم المنتسَخات البدئية للجينات التي ترمّز البروتين إلى ثلاثة تعديلات أساسية قبل انتقالها إلى هيولى الخلية (الشكل 5-10).



(الشكل 5-10) التعديلات الثلاثة التي تجري على جزيء الرنا المرسال البدئي Pre-mRNA في حقيقيات النوى. 1) إضافة قلنسوة 7MG Cap إلى النهاية `5 للرنا المرسال، 2) إضافة ذيل عديد الأدنين إلى النهاية `3 للرنا المرسال، و3) شطر تسلسلات الإنترونات (باللون البني) من جزيء الرنا المرسال البدئي وخلو الرنا المرسال الناضج mRNA من هذه التسلسلات.

1. إضافة قلنسوة عند النهاية `5 للمنتسخ مؤلفة من 7 ميثيل غوانوزين 7-Methy Guanosine أو(7MG)، إذ يرتبط 7MG مع المنتسخ عبر رابط فوسفاتي `5 إلى `5.
2. إضافة ذيول عديد الأدنين Poly(A) Tails إلى النهاية `3 للمنتسخ، التي تتولّد عبر الشطر بدلاً من إنهاء الانتساخ، وتنتهي بإضافة عدد من الأدنين يتراوح بين 20 إلى 200 نوكليوتيد.
3. وفي حال وجودها، يتم تضفير Splicing تتاليات الإنترونات خارج المنتسخ البدئي.

في حقيقيات النوى، تدعى جُمَيْعة المنتسَخات الأولية في النواة بالرنا النووي غير المتجانس Heterogeneous Nuclear RNA أو hnRNA بسبب التباين الكبير في أطوال جزيئات الرنا الموجودة لاحتواء معظمها على الإنترونات متباينة الطول. إضافةً لذلك، تغطّي منتسخات الرنا في حقيقيات النوى بروتينات رابطة للرنا خلال أو بعد اصطناعها مباشرة. تحمي هذه البروتينات منتسخات الجينات من التدرّك

Degradation أنزيمات الريبونكلياز المحلمهة للرنا RNA Hydrolyzing Ribonucleases، وذلك خلال تقطيع ونقل الرنا إلى الهيولى. يبلغ متوسط نصف عمر منتسَخ الجين في حقيقيات النوى نحو 5 ساعات، على عكس متوسط عمره في بدائيات النوى البالغ 5 دقائق فقط، ويعود ذلك جزئياً على الأقل إلى ارتباط البروتينات المكثف على الرنا في حقيقيات النوى.

خمسة أنواع لبوليميراز الرنا وخمس مجموعات من الجينات

بينما يحفّز إنزيم بوليميراز رنا وحيد الانتساخ في بدائيات النوى، تمتلك جميع حقيقيات النوى ما بين 3 إلى 5 أنواع من بوليميرازات الرنا مع كون هذه الكائنات تتراوح بين وحيدات الخلية كفطر الخميرة وبين الإنسان. توجد 3 إنزيمات تدعى بوليميراز الرنا (RNA Pol I, II, III) في جميع حقيقيات النوى، وجميعها تمتلك 10 وُحَيْدات أو أكثر وتكون أكثر تعقيداً من بوليميراز الرنا الوحيد في جراثيم E. coli. إضافةً لذلك، وبشكل مغاير لبدائيات النوى، تحتاج جميع بوليميرازات حقيقيات النوى إلى مساعدة بروتينات أخرى تدعى بعوامل الانتساخ Transcription Factors حتى تبدأ اصطناع سلاسل الرنا. يبيّن (الجدول 5-1) الخصائص الأساسية لبوليميرازات الرنا الخمس في حقيقيات النوى.

(الجدول 5-1) خصائص بوليميرازات الرنا الخمس في حقيقيات النوى

Enzyme	Location	Products
RNA polymerase I	Nucleolus	Ribosomal RNAs, excluding 5S rRNA
RNA polymerase II	Nucleus	Nuclear pre-mRNAs
RNA polymerase III	Nucleus	tRNAs, 5S rRNA, and other small nuclear RNAs
RNA polymerase IV	Nucleus (plant)	Small interfering RNAs (siRNAs)
RNA polymerase V	Nucleus (plant)	Some siRNAs plus noncoding (antisense) transcripts of siRNA target genes.

يوجد Pol I في النويّة Nucleolus إذ يحفّز اصطناع جزيئات الرنا الريباسي rRNA باستثناء أحدها وهو5S rRNA. يَنسخ إنزيم Pol II الجينات النووية التي ترمّز البروتينات، بينما يحفّز إنزيم Pol III اصطناع الرنا جزيئات الناقل وجزيئات 5S rRNA إضافةً إلى جزيئات الرنا النووي الصغير Small Nuclear RNAs. وحتى يومنا هذا، تم التعرف على إنزيمي Pol IV وPol V فقط في النباتات، مع بعض الأدلة على وجودهما في الفطور. يقوم هذان الإنزيمان الأخيران بكبت التعبير عن بعض الجينات عبر عملية إعادة نمذجة الكروماتين Chromatin Remodeling (انظر الفصل السابع). يقوم Pol IV باصطناع منتسخات تقطَّع إلى قطع صغيرة من الرنا، وتدعى جزيئات الرنا المتداخل الصغير Small Interfering

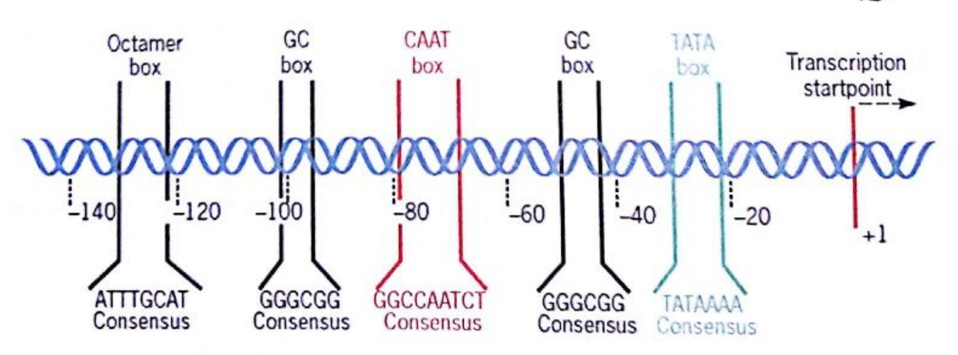
RNAs أو(siRNAs) وهي منظّمات مهمة للتعبير الجيني. من جهةٍ أخرى، يقوم Pol V بتصنيع مجموعة من siRNAs ومن منتسخات الجينات غير المرمّزة التي يتم تنظيمها من قبل siRNAs.

1.3.5. طور البدء في حقيقيات النوى Initiation Phase in Eukaryotes

لا يمكن لبوليميرازات حقيقيات النوى البدء بالانتساخ وحدها. وفي الواقع، يجب أولاً أن ترتبط عوامل الانتساخ إلى منطقة المحضّض في الدنا وتشكّل معقّد البدء المناسب قبل ارتباط إنزيم بوليميراز الرنا وبدء الانتساخ. تستخدم بوليميرازات الرنا محضّضات Promoters وعوامل انتساخ مختلفة، وسنركّز هنا على البدء بانتساخ الرنا المرسال البدئي المصطنع من قبل Pol II، الذي ينتسخ الغالبية العظمى من جينات حقيقيات النوى. وفي جميع الأحوال، يكتنف البدء بالانتساخ تشكيل قطعة من الدنا منفصلة الطاقين، الأمر الذي يتطلب تآثراً فيما بين عدة عوامل انتساخ مع تتالياتها النوعية في منطقة المحضّض.

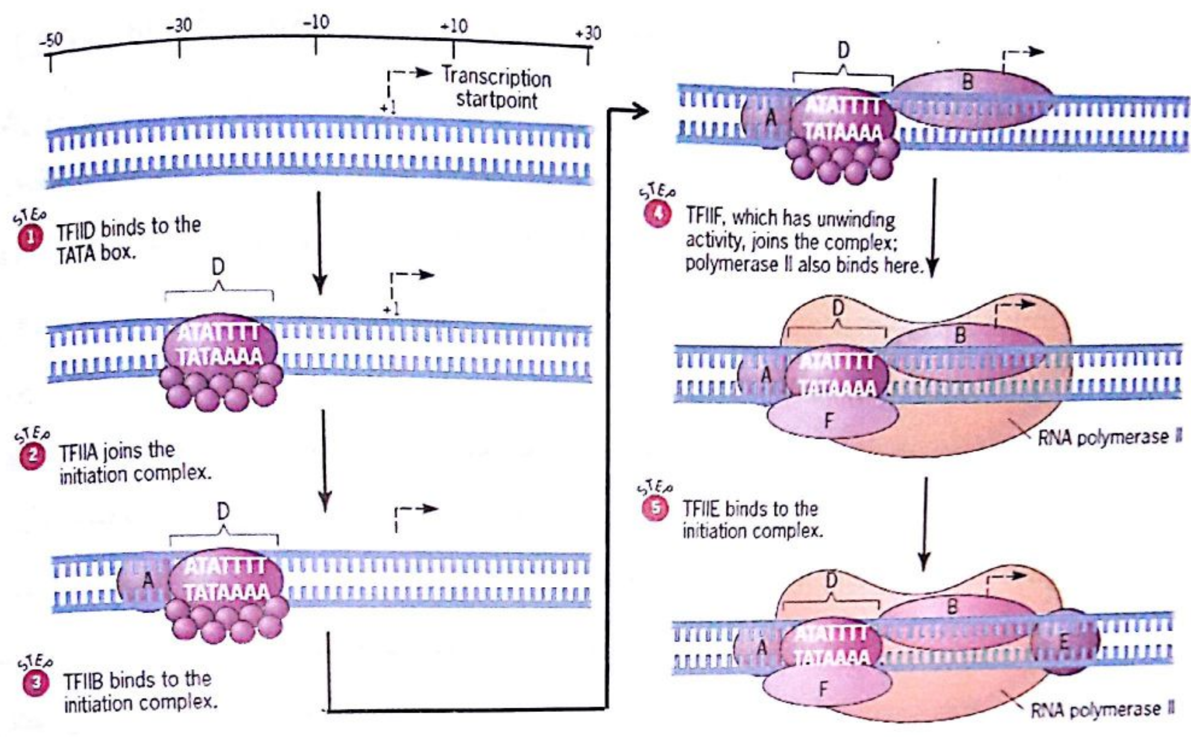
تتألف المحضّضات التي يستخدمها إنزيم Pol II من عناصر مُصانة Conserved قصيرة متوضّعة صُعُداً نسبةً لنقطة بداية الانتساخ. يُظهر (الشكل 5-11) محضّضاً لجين الثيميدين كيناز. يدعى التتالي المُصان الأقرب إلى موقع البدء بالانتساخ بصندوق تاتا TATA Box، والمؤلف من التتالي TATAAAA الموجود على الطاق غير المرصاف ويقع بين الموقعين 20- إلى 40- من موقع البدء. يؤدي صندوق TATA دوراً هامّا في تحديد موقع بدء الانتساخ. ويدعى العنصر الآخر المُصان بصندوق كات CAAT Box، المؤلف من التتالي GGCCAATCT ويقع قرب الموقع 80-. وهنالك عنصران مُصانان آخران هما صندوق GC Box وصندوق الثمانية Octamer Box، التي تؤثّر جميعاً في فعالية المحضّض في البدء بالانتساخ.

يتطلب الانتساخ أنزيم Pol II مساعدةً من عدة عوامل انتساخ أساسية Basic TFs. مع ذلك، تقوم عوامل انتساخ أخرى وتتاليات تدعى المعززات Enhancers والمُسْكتات Silencers بتعديل فعالية بدء الانتساخ (انظر الفصل السابع).



(الشكل 5-11) التتاليات المُصانة في محضّضات حقيقيات النوى مع مواقعها صُعُداً نسبةً لموقع بدء الانتساخ 1+.

تعتمد فعالية الانتساخ على تآثر عوامل الانتساخ الأساسية مع المحضّضات وفق ترتيب محدّد (الشكل 5-12). تسمّى هذه العوامل TFII(X)، إذ يرمز TF إلى عامل الانتساخ وII إلى بوليميراز الرنا II وX إلى نوع العامل.



(الشكل 5-12) مراحل تشكيل معقّد بدء الانتساخ في حقيقيات النوى. 1) يرتبط TFIID إلى صندوق TATA، 2) يلي ذلك ارتباط TFIIA ومن ثمّ 3) TFIIB و4) TFIIF وأخيراً 5) TFIIE.

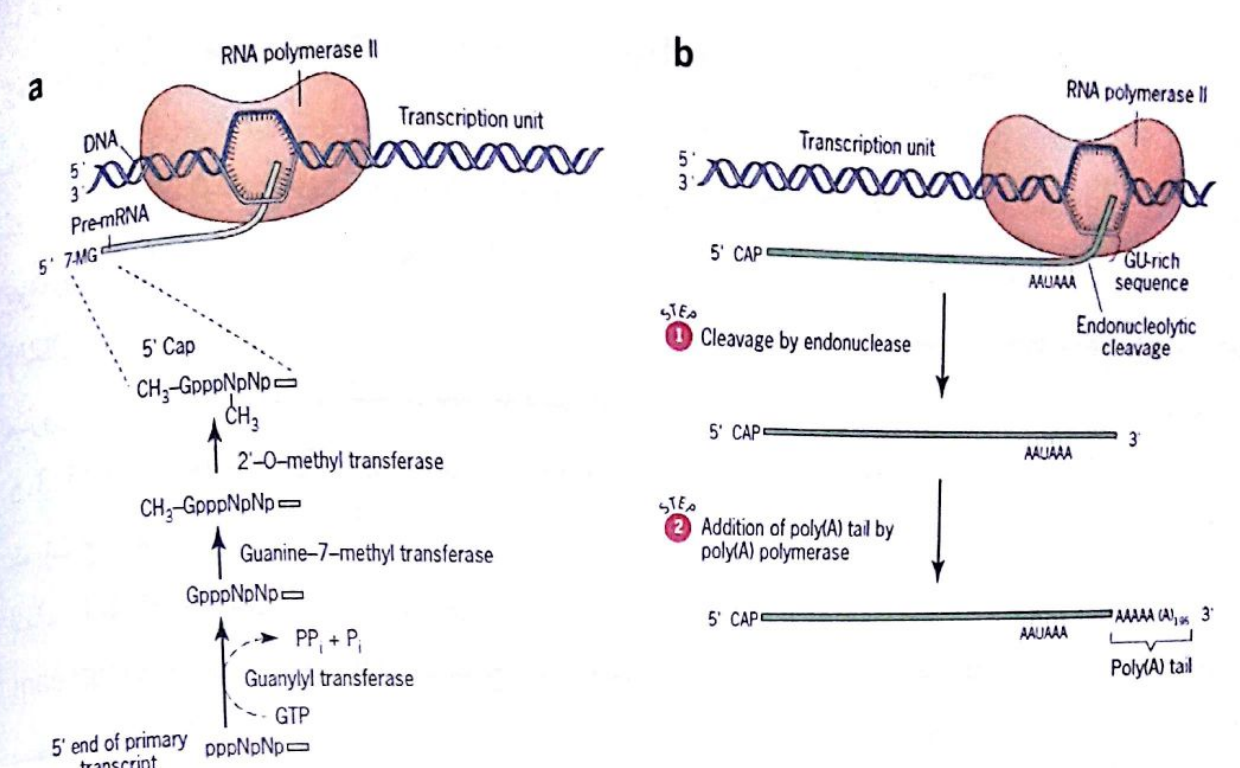
يكون العامل TFIID هو أول عوامل الانتساخ الذي يرتبط بالمحضض لاحتوائه على بروتين رابط لصندوق التاتا يدعى TATA-Binding Protein أو(TBP). إثر ذلك، يرتبط العامل TFIIA ومن ثمّ TFIIB. يرتبط العامل TFIIF أولاً بإنزيم بوليميراز الرنا ومن ثمّ يرتبط معقد البوليميراز مع TFIIF مع كامل المعقد المرتبط مسبقاً في منطقة المحضّض. يمتلك TFIIF قدرةً على فصل طاقي الدنا عند موقع بدء الانتساخ. يرتبط إثر ذلك العامل TFIIE. يرتبط أخيراً العاملان TFIIH وTFIIJ. يمتلك TFIIH خاصية إنزيم Helicase المفكّك للروابط الهيدروجينية بين طاقي الدنا ويرحل مع إنزيم بوليميراز الرنا على طول القطعة المنتَسَخَة خلال طور الإطالة، حيث يقوم بفك طاقي الدنا أمام إنزيم البوليميراز.

2.3.5. إطالة سلسلة الرنا وإضافة قلنسوة من 7 ميتيل غوانوزين 7MG في النهاية `5

حالما يتحرر إنزيم بوليميراز الرنا من معقّد بدء الانتساخ فإنه يحفز إطالة سلسلة الرنا بشكل مماثل لما ذكر أعلاه بالنسبة لبدائيات النوى. يتم تعديل النهاية `5 من الرنا المرسال البدئي عبر إضافة قلنسوة 7 ميثيل غوانوزين 7MG باكراً جداً خلال طور الإطالة عندما يبلغ طول سلسلة الرنا الناشئ نحو 30 نوكليوتيداً فقط (الشكل 5-a13). تقوم هذه القلنسوة بحماية سلسلة الرنا من التدرك بإنزيمات النكلياز Nucleases كما أنها ضرورية لربط عدة عوامل بروتينية والمساعدة في عملية ترجمة الرنا في الهيولى (انظر الفصل السادس).

3.3.5. إنهاء سلسلة الرنا عبر شطر السلسلة وإضافة ذيول عديد الأدنين Poly A Tails

يتم إنتاج النهاية `3 لمُنتَسخ الرنا المصطنع أنزيم Pol II عبر الشطر الإنزيمي داخل سلسلة الرنا بدلاً من إنهاء الانتساخ (الشكل 5-b13). في الحقيقة، يستمر الانتساخ نحو 1000 إلى 2000 نوكليوتيد نُزُلاً Downstream من الموقع الذي سيصبح لاحقاً النهاية `3 للرنا المرسال الناضج قبل إضافة ذيول الأدنين. يحصل شطر الرنا المرسال في النهاية `3 عند موقع يكون 11 إلى 30 نوكليوتيداً نُزُلاً من موقع إشارة مُصان لإضافة عديد الأدنين هو AAUAAA وصُعُداً من تسلسل غني بالغوانين واليوراسيل GU-Rich عند نهاية المنتسخ. وبعد الشطر، يضيف إنزيم Poly A Polymerase ذيول الأدنين، وهي عبارة عن تسلسل من نوكليوتيدات الأدنين فقط يصل طوله نحو 200 نوكليوتيداً، إلى النهاية `3 لمنتسخ الرنا (الشكل 5-b13). تعزّز ذيول عديد الأدنين في جزيئات الرنا المرسال عند حقيقيات النوى ثباتيّة هذه الجزيئات، وتؤدي دوراً مهماً في نقلها خارج النواة إلى الهيولى.

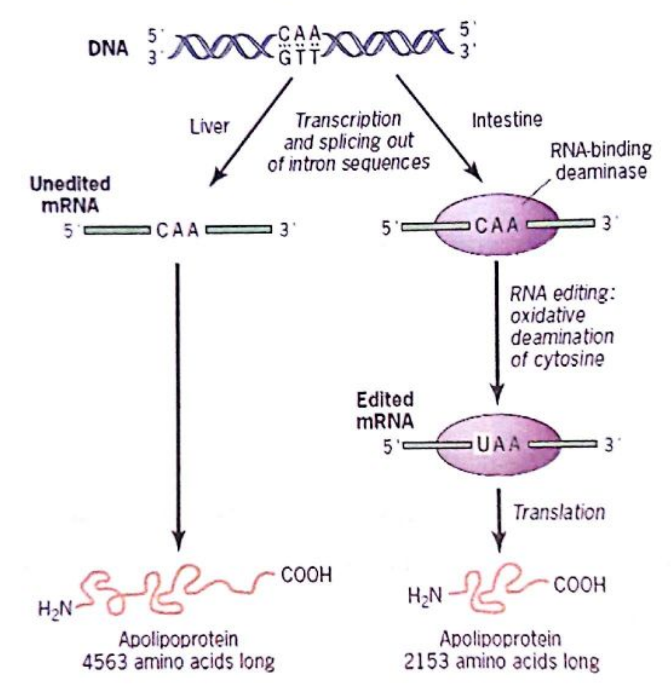


(الشكل 5-13. a) إضافة 7MG إلى النهاية `5 لجزيء الرنا المرسال البدئي. يقوم إنزيم **Guanylyl Transferase** أولاً بنقل الغوانين من GTP وربطه مع أول نوكليوتيد في النهاية `5 برابطة فسفورية ثنائية الإستر من النوع `5 إلى `5. إثر ذلك، يتواسط إنزيم **Guanine-7-Methyl Transferase** بإضافة جذر ميثيل إلى الكربون 7 للغوانين، وأخيراً يضيف إنزيم **2`-O-Methyl Transferase** عادةً جذر ميثيل آخر إلى النوكليوتيد التالي للغوانين. b) إضافة ذيل الأدنين في النهاية `3 التي تتم على مرحلتين؛ الأولى هي شطر جزيء الرنا البدئي نُزُلاً من الموقع **AAUAAA** بتواسط إنزيم شطر داخلي **Endonuclease**، والثانية هي إضافة ذيول الأدنين إلى النهاية `3 بتواسط إنزيم **Poly A Polymerase**.

4.3.5. تحرير الرنا RNA Editing: تغيير محتوى المعلومات في جزيئات الرنا المرسال

تبعاً للمسلمة المركزية كما رأينا أعلاه، تعبر المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا إلى البروتين خلال التعبير الجيني، وعادةً لا يتم تعديل أي من المعلومات خلال هذه العملية. لكنّ اكتشاف آلية تحرير الرنا RNA Editing أبرز أن هنالك استثناءات للقاعدة العامة. تعدّل آلية تحرير الرنا من محتوى منتَسَخات الجينات بطريقتين: 1) عبر تغيير بنى الأسس النوكليوتيدية، و2) عبر إضافة أو حذف نوكليوتيد اليوراسيل. ينتج عن النمط الأول من التعديلات استبدال أحد الأسس النوكليوتيدية بغيره، ويتمّ ذلك نادراً. ولفهم هذه الآلية نضرب مثالاً اكتُشف لدى دراسة الجينات المرمّزة لبروتين صميم (طليعة) البروتين الشحمي ب Apolipoprotein-B والرنا المرسال الناتج عنها في كل من الأرانب والإنسان. تقوم طلائع البروتينات

الشحمية الموجودة في الدم بنقل أنواع محدّدة من جزيئات الدسم في جملة الدوران مثل الكولسترول والأحماض الدسمة. في الكبد، يرمّز الرنا المرسال لجين apo-B بروتيناً كبير الوزن الجزيئي مؤلفاً من 4563 حمضاً أمينياً، بينما يرمّز نفس الرنا المرسال في الأمعاء بروتيناً يتألف من 2153 حمض أمينياً فقط. في الأمعاء يتحوّل أحد نوكليوتيدات السيتوزين في منتسخ الرنا إلى يوراسيل بحيث يخلق رامِز هو أحد روامز التوقف Stop Codons التي توقف ترجمة البروتين، ويؤدي إلى إنتاج البروتين الأصغر حجماً (الشكل 5-14). يتم قلب السيتوزين إلى اليوراسيل عبر بروتين مرتبط بتسلسل نوعي على الرنا، إذ يقوم بإزالة المجموعة الأمينية من السيتوزين محولاً إياه إلى يوراسيل.



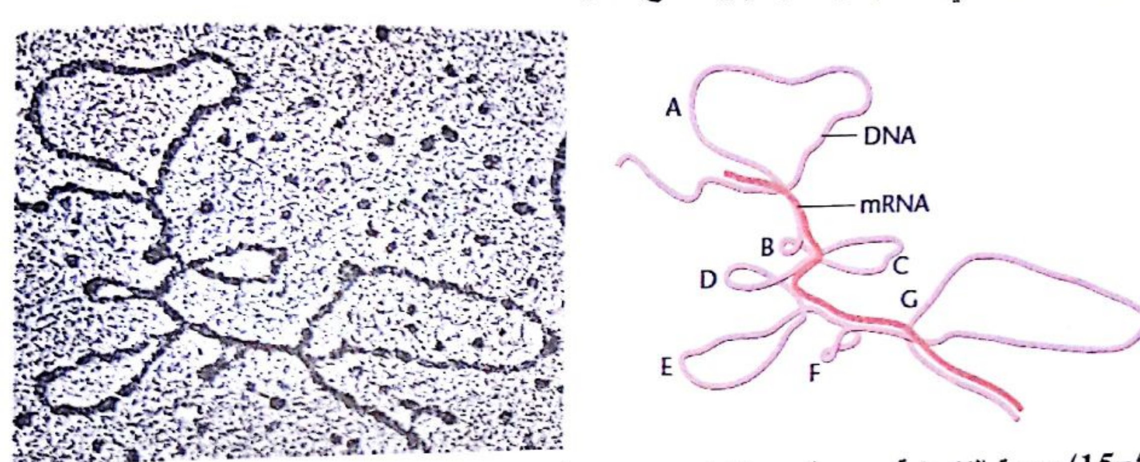
(الشكل 5-14) تحرير الرنا RNA Editing في صميم البروتين الشحمي ApoB في الأمعاء. ينتج عن ترجمة المنتسخ الناضج (غير المحرّر Unedited) في الكبد بروتين بطول 4563 حمضاً أمينياً، بينما يرتبط أحد إنزيمات إزالة الأمين Deaminase في الأمعاء بالرامِز CAA محولاً إياه إلى UAA، وهي إحدى شيفرات توقف الترجمة، مما يؤدي إلى إنتاج بروتين بطول 2153 حمضاً أمينياً فقط في الأمعاء ناتجاً عن ترجمة نفس منتسخ الجين الأولي في الكبد.

5.3.5. الجينات المتقطّعة في حقيقيات النوى: الإكسونات Exons والإنترونات Introns

يعود التمييز بين التسلسلات المنتسَخة والمترجَمة (الإكسونات) وبين التسلسلات المنتسَخة وغير المترجَمة (الإنترونات) إلى العام 1977، إذ لوحظ وجود تسلسلات موجودة في بنية الرنا المرسال البدئي Pre-mRNA لجين البيتا غلوبين β-globin في الأرانب وغائبة في الرنا المرسال الناضج Mature mRNA

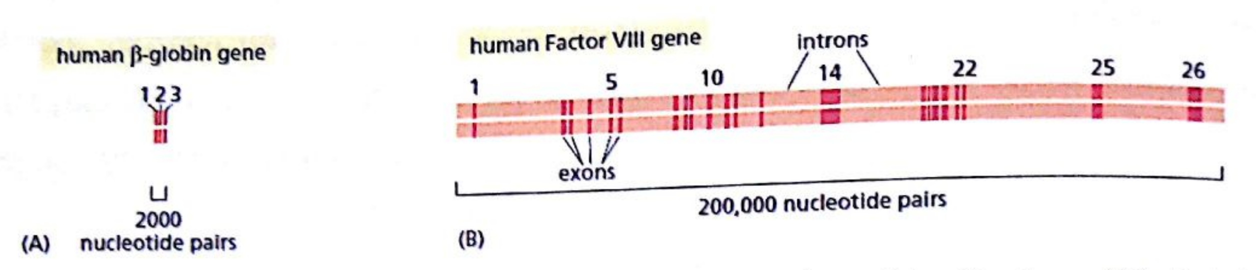
الخاص بها الذي يترجم في الهيولى، أطلق عليها الإنترونات **Int**rons اختصاراً لمعنى التسلسلات المتداخلة **Int**ervening Sequences، بينما أطلق على باقي التسلسلات الإكسونات **Ex**ons تمييزاً لمعنى التسلسلات المعبّر عنها **Ex**pressed Sequences.

يمكن تحديد مواقع الإنترونات في إحدى الجينات التي تحويها عبر تهجين سلسلة الرنا المرسال الناضج مع دنا الجين نفسه، إذ يزيح الرنا المرسال بشروط تهجين خاصة أحد طاقي الدنا ليرتبط بدلاً عنه الرنا مع تسلسله المتمم. يؤدي ذلك إلى ظهور عدد من العرى Loops التي تمتد خارج شريط الدنا التي يتساوى عددها مع عدد الإنترونات، إذ ترتبط سلسلة الرنا المرسال الناضج فقط مع تسلسلات الإكسونات مزيحةً تسلسلات الإنترونات التي لا تتهجن معها إلى خارج جزيء الدنا (الشكل 5-15).



(الشكل 5-15) صورة إلكترونية مجهرية مع الشكل التوضيحي تُظهر ناتج التهجين بين الرنا المرسال وجين الأوفالبومين المرمّزين لبروتين Ovalbumin في الدجاج تبيّن تشكّل الجزيء المتغاير من الرنا والدنا مع خروج تسلسلات الإنترونات خارج سلسلة الدنا. وتبدوفي الشكل 7 إنترونات (A–G) تؤدي إلى ظهور عُرى غير هجينة.

لا تحتوي جميع الجينات في حقيقيات النوى على الإنترونات. مع ذلك، يفوق عدد الجينات الحاوية على الإنترونات تلك التي لا تحويها في الحيوانات والنباتات الراقية. ويؤدي وجود الإنترونات في الكثير من الجينات إلى زيادة كبيرة في طول الجين، إذ عادةً ما تشكّل الإكسونات قطعاً قصيرة متناثرة بين الإنترونات الطويلة. ويتراوح طول الإنترونات من 50 نوكليوتيداً إلى الآلاف من النوكليوتيدات، كما يختلف عددها من جين إلى أخرى. فعلى سبيل المثال، تحتوي جين البيتا غلوبين β–globin على إنترونين يتداخلان بين 3 إكسونات، بينما تتألف جين عامل التخثر الثامن من 26 إكسوناً و25 إنتروناً (الشكل 5-16). أما أكبر الجينات المعروفة في الإنسان فهي جين *DMD* التي تؤدي الطفرات فيها إلى داء الحثل العضلي Muscular Dystrophy، ويبلغ طولها 2.5 مليون نوكليوتيد مع احتوائها على 78 إنتروناً.



(الشكل 5-16) عدد إكسونات (باللون الأحمر) وإنترونات (باللون البرتقالي) جينتي البيتا غلوبين البشري (A) وعامل التخثر الثامن البشري (B).

وعلى الرغم من أن الدور الحيوي للإنترونات غير معروف بدقة وقد يتغاير من إنترون لآخر، فقد تراكمت أدلّة كافية أشارت إلى دورٍ محتملٍ للكثير من الإنترونات في تنظيم التعبير الجيني للجينات التي تحتويها. إضافةً لذلك، تحتوي بعض الإنترونات على محضّضات بديلة نوعية لبعض النسج، كما تحتوي إنترونات أخرى على تسلسلات تعزّز تراكم جزيئات الرنا المُنتسَخ. مع ذلك، تقترح معدلات حدوث الطفرات الأعلى في الإنترونات بالمقارنة مع الإكسونات أن الكثير من الإنترونات لا يملك بالفعل دوراً بيولوجياً مهماً، بعكس الإكسونات التي ترمّز البروتينات وغير المتحمّلة لحدوث الطفرات. وقد ظهرت مؤخراً فرضيات تفسّر وجود الإنترونات كنتيجة لدمج الجينات بعضها مع بعض خلال تطور الكائنات الحية لتشكّل الجينات التي نعرفها اليوم.

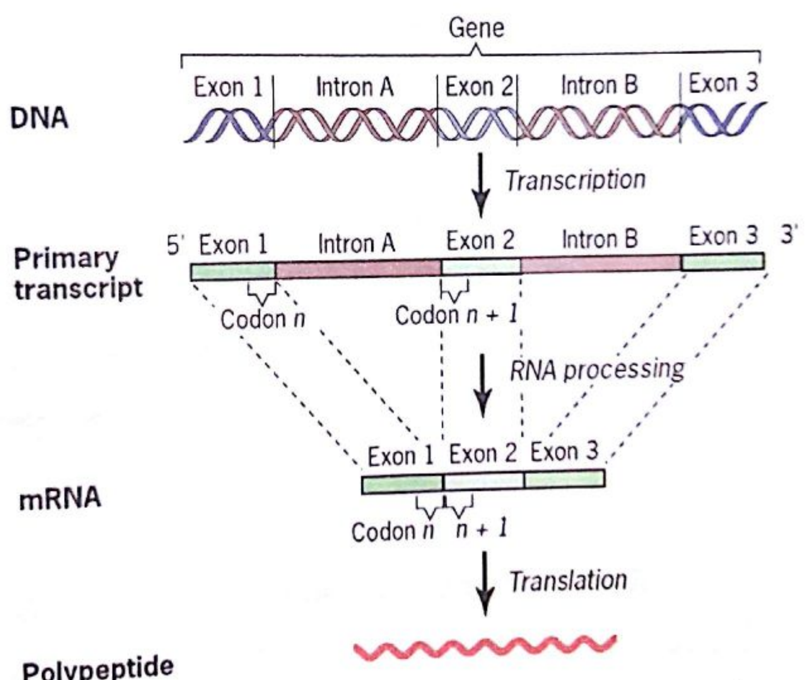
6.3.5. إزالة تسلسلات الإنترونات عبر تضفير الرنا RNA Splicing

كما أشرنا سابقاً، تحتوي معظم جينات النواة في حقيقيات النوى إنترونات حيث تُزال هذه الإنترونات بعملية التضفير Splicing قبل خروج الرنا المرسال الناضج من النواة، أي لاحقاً للانتساخ وسابقاً للترجمة (الشكل 5-17). دلّت الأبحاث الحديثة أن تضفير تسلسلات الإنترونات يمكن أن يؤثر في التعبير الجيني، وبرزت هذه الأهمية بعد توثيق أثر الطفرات في موقع التضفير على حدوث عدد من الأمراض، من أهمها اضطرابات الهيموغلوبين والتالاسيمية.

يجب أن تتم عملية التضفير بدقة متناهية لجزيئات الرنا المرسال التي ترمّز البروتين؛ أي يجب أن يجري ضمّ الإكسونات بعضها مع بعض بدقة لا تحتمل الخطأ حتى بنوكليوتيد واحد لتضمن بذلك عدم تغير قراءة الشيفرات أثناء الترجمة ومنعاً لتشكّل طفرات انزياح الإطار Frame-Shift Mutations (انظر الفصل التاسع). وبلا شك، يتطلب ذلك وجود إشارات تضفير عالية الدقة تتضمن تسلسلات نوكليوتيدية داخل الإنترونات وفي مواقع اتصال الإكسونات مع الإنترونات. مع ذلك، تكون التتاليات الوحيدة المُصانة بشكل كلي في الإنترونات المختلفة عبارةً عن نوكليوتيدين فقط على طرفي الإنترون هي:

Exon – GT .... AG – Exon

ملاحظة: التتاليات الموضحة أعلاه هي موجودة في طاق الدنا غير المرصاف (المماثل لمنتسخ الرنا فيما عدا استبدال اليوراسيل U في الرنا عوضاً عن الثيمين T في الدنا).



(الشكل 5–17) تضفير الرنا، أي إزالة الإنترونات وإعادة ربط الإكسونات. ويلاحظ ترقيم النوكليوتيد الأخير من الإكسون الأول الذي يليه مباشرة النوكليوتيد الأول من الإكسون الثاني بعد التضفير، بحيث تحافظ عملية التضفير على جميع التتاليات النوكليوتيدية في الإكسونات وتزيل جميع تتاليات الإنترونات.

بيّن الباحثون أن هنالك ثلاثة أنماط مميزة لشطر الإنترونات من منتسخات الرنا البدئية (طلائع الرنا):

1. تُشطَر طلائع الرنا الناقل tRNA عبر تفاعلات شطر دقيقة تتم داخل جزيء الرنا الناقل تُحفَّز بفعاليات إنزيمية للإندونكلياز Endonuclease، الذي يشطر الإنترونات، والليغاز Ligase، الذي يعيد ارتباط الإكسونات بعضها ببعض.
2. تُزال إنترونات بعض طلائع الرنا الريباسي rRNA عبر تحفيز ذاتي Autocatalysis مُتواسَط بجزيء الرنا نفسه، ولا يحتاج ذلك إلى أي فعالية إنزيمية بروتينية.
3. تُشطَر طلائع الرنا المرسال المتغايرة (hnRNA) بتفاعلات تتبع خطوتين اثنتين تقوم بهما بروتينات نووية ريبية تدعى جسيمات التضفير Spliceosomes.

وسنركّز هنا فقط على النمط الثالث لأنه يُعنى بتضفير الرنا المرسال المشفّر للبروتينات.

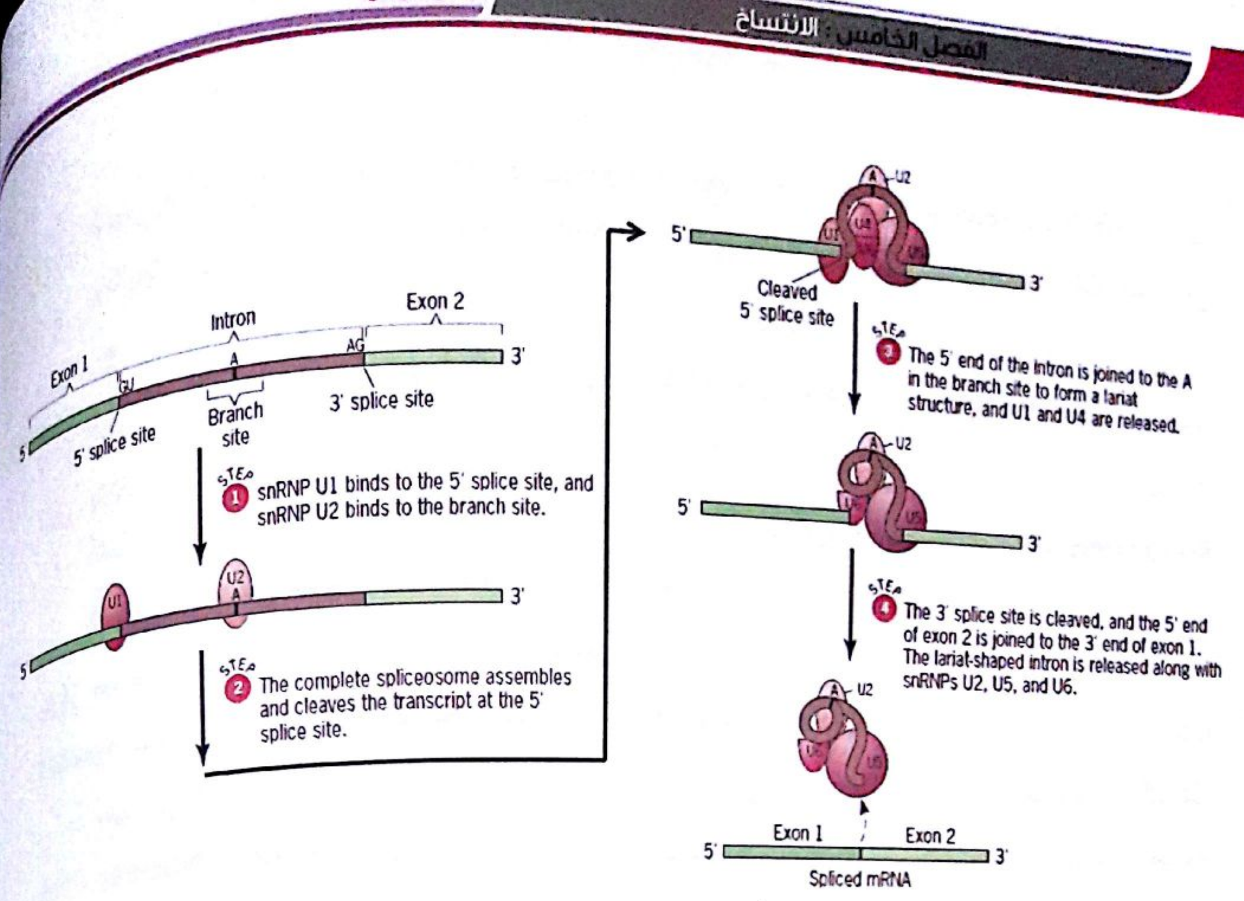
يتم تضفير طليعة الرنا في النواة بتواسط جسيمات التضفير، وهي معقدات هجين من الرنا والبروتين تشبه إلى حدّ بعيد الريباسات، وتحتوي على جزيئات رنا صغيرة تدعى جزيئات الرنا النووي الصغيرة Small Nuclear RNAs أو(SnRNAs) إضافةً لنحو 40 بروتيناً. يُظهر الشكل 5-18 مرحلتي تضفير طليعة الرنا النووي، وذلك على الرغم من أن الكثير من تفاصيل العملية غير معروفة حتى الآن.

تكتنف خمسة أنواع من الرنا النووي الصغير، تدعى U1 وU2 وU4 وU5 وU6، عملية التضفير كأجزاء من معقّد جُسَيم التضفير Spliceosome.

ملاحظة: يقع U3 في النويّة، ويكون مسؤولاً عن تشكيل الريباسات، ولا يتدخل في تضفير الرنا المرسال.

يتراوح حجم جزيئات snRNAs بين 100 نوكليوتيد في U6 إلى 215 نوكليوتيد في U3. ولا توجد جزيئات الرنا هذه بشكل حر بل دوماً بشكل معقدات RNA-Protein تدعى البروتينات النووية الريبية الصغيرة Small Nuclear Ribonucleoproteins أو snRNPs.





(الشكل 5-18) مراحل تضفير الرنا المرسال الأولي. 1) يرتبط البروتين النووي الريبي U1 إلى النهاية `5 للإنترون (أوموقع الشطر `5) والبروتين النووي الريبي U2 إلى موقع داخل الإنترون يدعى بموقع التفرّع Branch Site. 2) يتشكّل كامل جسيم التضفير Sliceosome ويشطُر النهاية `5 للإنترون. 3) ترتبط النهاية `5 للإنترون المشطور مع موقع التفرّع داخل الإنترون نفسه مشكّلةً بنية تسمى البنية الملتوية Lariat Structure. 4) تُشطَر النهاية `3 للإنترون ويتحرر الإنترون مع البروتينات النووية المرتبطة بها، ويعاد ربط الإكسونين بعضهما مع بعض بتواسط إنزيم الليغاز.

تضم المرحلة الأولى من التضفير شطر الإنترون من نهايته الـ `5، أي بين نهاية الإكسون وبين النوكليوتيد الأول في الإنترون وهو G، وتشكيل رابطة فسفورية ثنائية الإستر بين الكربون `5 للغوانين عند موقع الشطر والكربون `2 للأدنين المصان قرب النهاية `3 للإنترون، وتتطلب هذه المرحلة الطاقة التي توفرها جزيئات الـ ATP. في المرحلة الثانية يُشطر موقع التضفير `3 للإنترون وبعدها يتم ربط الإكسونين سوية عبر رابطة فسفورية ثنائية الإستر بين هيدروكسيل النوكليوتيد الأخير في الإكسون السابق ومجموعة فسفات النوكليوتيد الأول في الإكسون التالي. يكون بعدها الرنا المرسال الناضج جاهزاً لمغادرة النواة إلى الهيولى إذ تتم ترجمته على الريباسات.

خاتمة

تعرّفنا في هذا الفصل أهم آليات المرحلة الأولى من التعبير الجيني لدى كل من بدائيات وحقيقيات النوى مبرزين مدى التشابه والاختلاف في تلك الآليات بينهما، الأمر الذي لا بدّ وأنه يفسّر سرعة تكيّف بدائيات النوى مع الشروط البيئية المحيطة نسبةً لحقيقيات النوى التي تبدي استجابات أبطأ وأكثر تعقيداً لتلك التغيرات. وسنشرع في الفصل التالي (الفصل السادس) بدراسة آليات المرحلة الثانية، وهي ترجمة المعلومات الوراثية المنتسخة إلى البروتينات الوظيفية في تلك الكائنات.

الفصل السادس

الترجمة واصطناع البروتينات

Translation and Protein Synthesis

المحتويات Contents

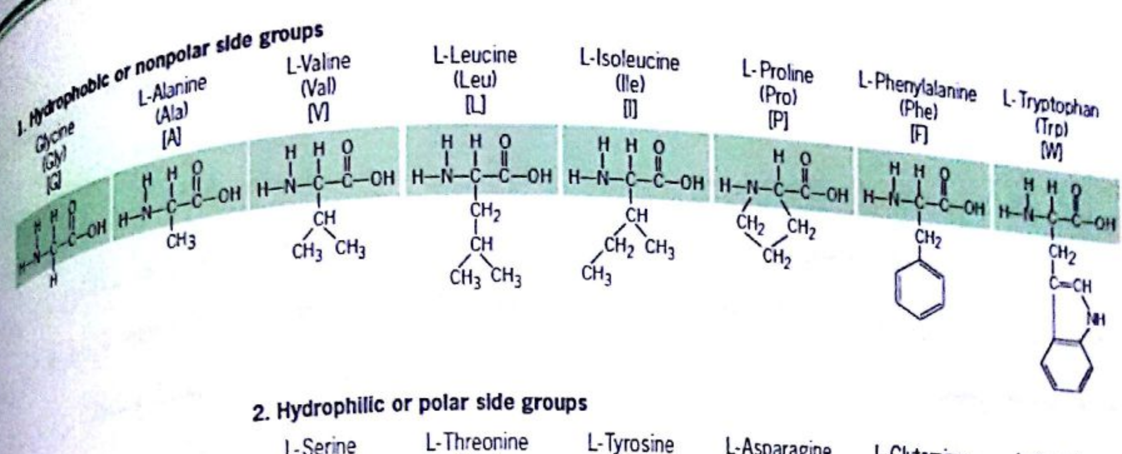
مراجعة بُنية البروتينات

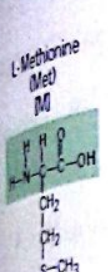
تشكّل البروتينات نحو 15 بالمئة من الوزن الرطب للخلايا، وتأتي بذلك في المرتبة الثانية فقط بعد الماء، وتؤدي أدواراً حيوية هامة جداً بالنسبة للخلية. تتألف البروتينات من عديدات الببتيد، يرمّز كلٌّ منها إحدى الجينات. ويتألف عديد الببتيد من تتال طويل من الأحماض الأمينية المرتبطة معاً بروابط تساهمية تدعى الروابط الببتيدية Peptide Bonds. يوجد 20 حمضاً أمينياً في معظم البروتينات. ويمكن لبعض الأحماض الأمينية أن تخضع للتعديل بعد اصطناع سلسلة عديد الببتيد لينجم عن ذلك حمض أميني معدّل جديد في البروتين الناضج. يوضّح الشكل 6-1 بنية الأحماض الأمينية العشرين، ويظهر في الشكل أن جميع هذه الأحماض، عدا البرولين، تحتوي على مجموعة أمينية حرّة ومجموعة كربوكسيلية حرّة.

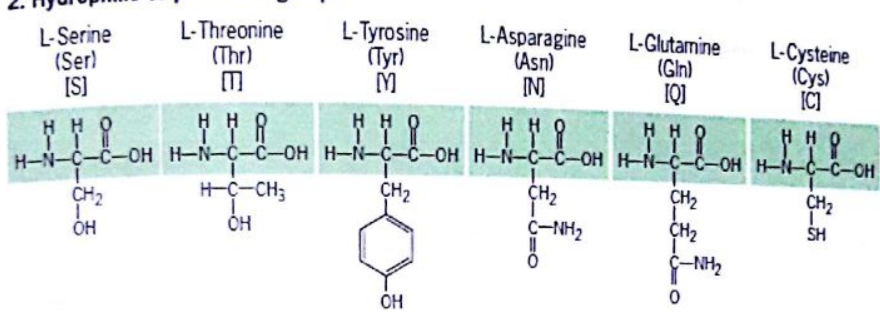
تُقسَم الأحماض الأمينية إلى أربع مجموعات:

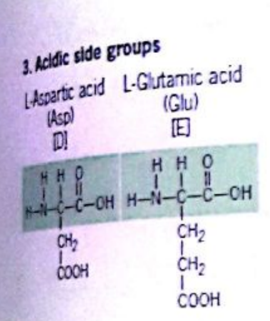
1. الأحماض الأمينية الكارهة للماء Hydrophobic (غير القطبية): وهي الغليسين، الألانين، الفالين، اللوسين، الإيزولوسين، البرولين، الفنيل ألانين، التربتوفان والميثيونين.
2. الأحماض الأمينية المحبة للماء Hydrophilic (القطبية): وهي السيرين، الثريونين، التيروزين، الأسباراجين، الغلوتامين، والسستئين.
3. الأحماض الأمينية الحمضية Acidic: وهي الحمض الأسبارتي والحمض الغلوتامي.
4. الأحماض الأمينية القلوية Basic: وهي الليزين، الأرجنين، والهستدين.

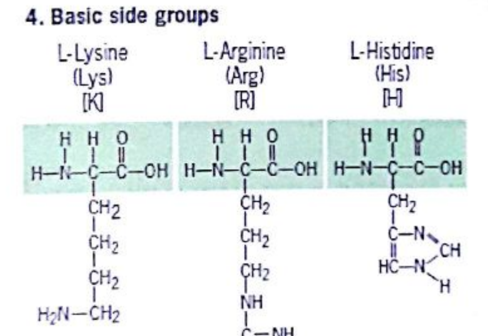
يتألف الببتيد من اثنين أو أكثر من الأحماض الأمينية. وعديدات الببتيد هي تتاليات طويلة من الأحماض الأمينية، تتراوح بين 51 حمضاً أمينياً في الإنسولين إلى أكثر من 1000 حمض أميني في بروتين الفبروين Fibroin الموجود في الحرير. من جهةٍ أخرى، إن العدد الكلي لاحتمالات عديد ببتيد بطول 100 حمض أميني هو20 للأس 100، حتى لوكان الببتيد مؤلفاً من 7 أحماض أمينية فقط فإن الاحتمالات الكلية تبلغ 20 للأس 7 أي 1.28 مليار احتمالاً. تبرز هنا أهمية تحديد التتالي المفيد والوظيفي للأحماض الأمينية، الذي يرتكز على تتالي النوكليوتيدات في مادتنا الوراثية.











(الشكل 6-1) أنواع وبنى الأحماض الأمينية العشرين

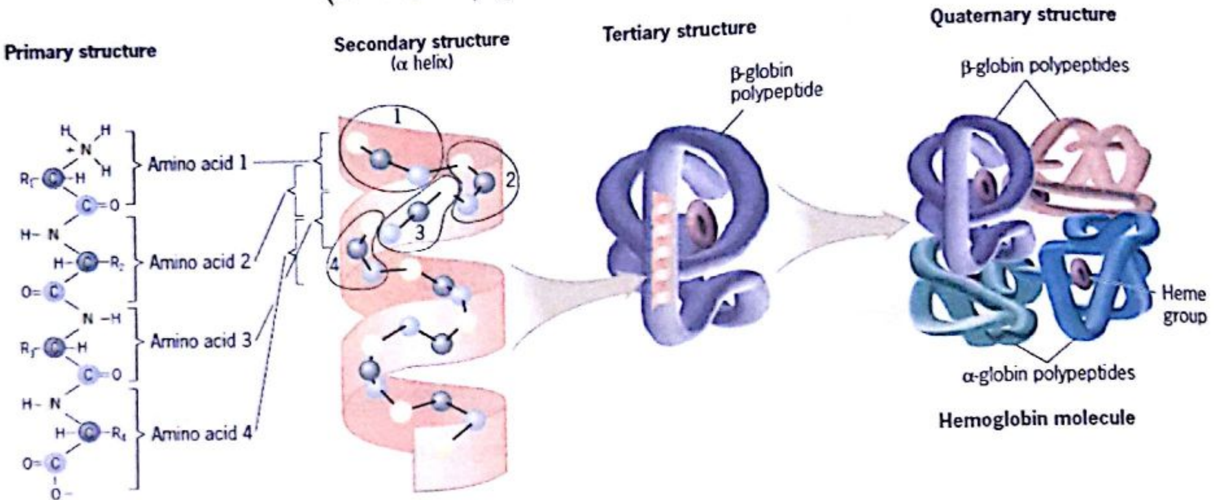
ترتبط الأحماض الأمينية في عديد الببتيد بعضها مع بعض بروابط ببتيدية Peptide Bonds بين المجموعة الكربوكسيلية للحمض الأميني الأول مع المجموعة الأمينية للحمض الأميني التالي.

Peptide bond

Amino acid 1   Amino acid 2   Dipeptide

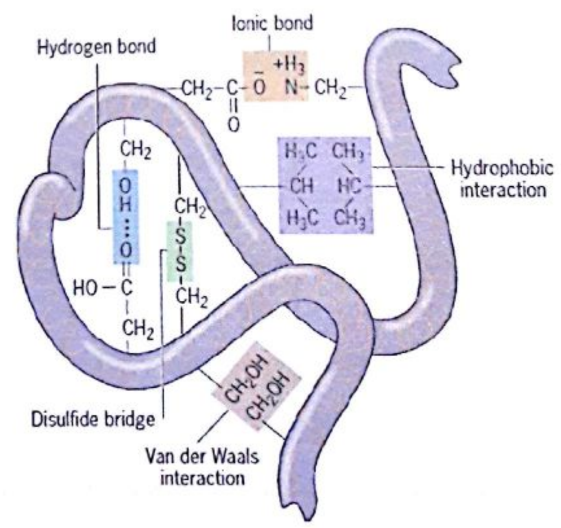
يمكن تمييز أربعة مستويات من بنى البروتينات موضحة بالشكل (6-2)؛ البنية الأولية Primary، وهي نوع وتسلسل الأحماض الأمينية ترمَّز من قبل مُنتسَخات الجينات، البنية الثانوية Secondary، وهي درجة

التفاف الأحماض الأمينية نسبة لبعضها البعض في نفس المستوي بشكلين هما صفيحة بيتا المنثنية Beta Pleated Sheet وحلزون ألف Alpha Helix، والبنية الثالثية Tertiary وهي التفاف سلسلة عديدة الببتيد في الفراغ، وأخيراً البنية الرابعية Quaternary وتوجد فقط في البروتينات التي تحوي على أكثر من سلسلة عديدة ببتيد. يمثّل الهيموغلوبين مثالاً ممتازاً لشرح البنى الأربع (الشكل 6-2).



(الشكل 6-2) البنى الأولية والثانوية والثالثية والرابعية لبروتين الهيموغلوبين

تتثبت البنية الثانوية للبروتين بالروابط الهيدروجينية بين الأحماض الأمينية المتقابلة في سلاسل بيتا أو حلزون ألفا، بينما تتثبّت البنيتان الثالثية والرابعية (إن وجدت البنية الرابعية) عن طريق الروابط الهيدروجينية والجسور الملحية بين الشحنات المتقابلة والروابط الكارهة للماء وقوى فاندرفالس، إضافةً إلى الروابط ثنائية الكبريت بين ثمالات السيستئين المتقابلة، وهذه الأخيرة هي الأقوى بين الروابط سابقة الذكر (الشكل 6-3).

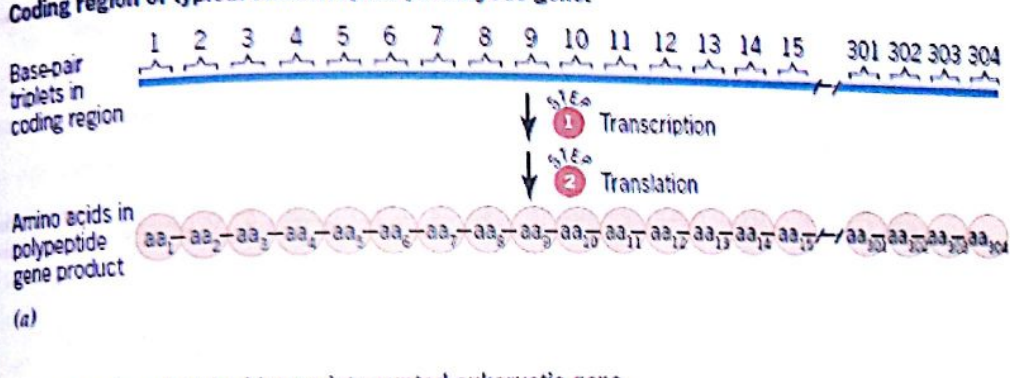


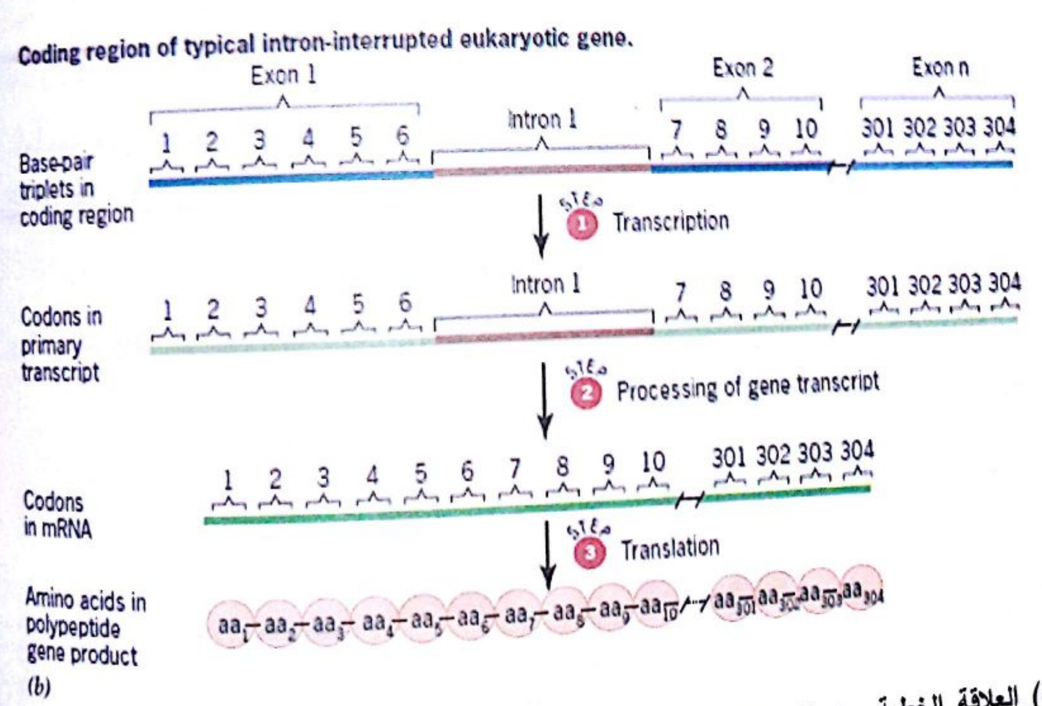
(الشكل 6-3) أنواع الروابط المثبّتة للبنية الثالثية للبروتين

تحدث عملية طي البروتين Protein Folding، أي التفاف سلسلة عديد الببتيد على نفسها في المستوى نفسه (ثنائي البعد) أوفراغياً (ثلاثي البعد)، بشكل تلقائي غالباً تحدّده البنية الأولية للبروتين. فإذا ما تعرّض البروتين إلى التمسّخ Denaturation وتفككت البنية الثالثية له، يمكن للبروتين أن يعاود الالتفاف والانطواء بشكل تلقائي أو بمساعدة بعض البروتينات التي تدعى بالشابيرونات Chaperones ويأخذ نفس الشكل الفراغي والبنية الثالثية الأصلية.

1.6. العلاقة الخطية Linearity بين الرنا المرسال وعديد الببتيد

تكون العلاقة خطّيةً Linear بين الجينات ومنتجاتها من عديدات الببتيد في كل من بدائيات وحقيقيات النوى، وبشكل أكثر تحديداً، بين الرامِز الوراثي المكوّن من ثلاثة نوكليوتيدات وبين كل من الأحماض الأمينية.

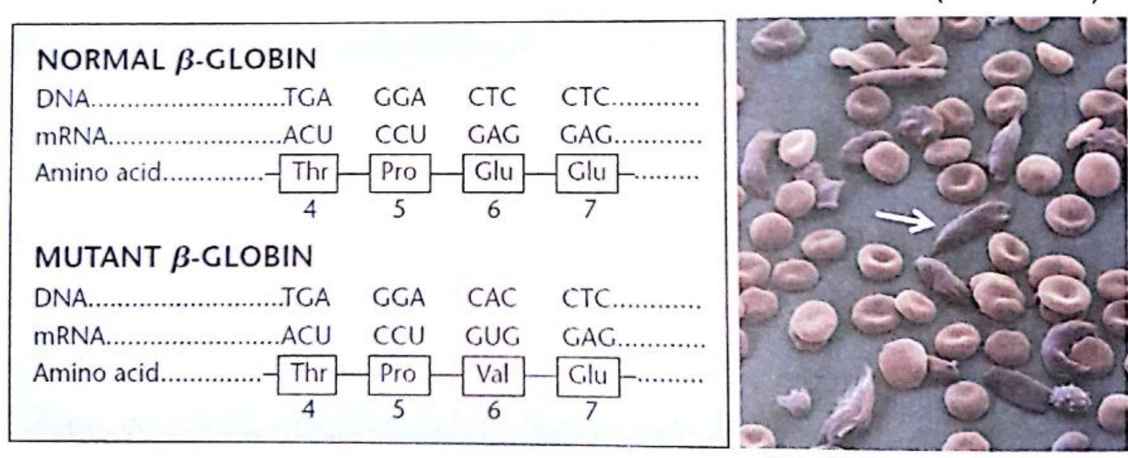




(الشكل 6-4) العلاقة الخطية بين الجينات وعديدات الببتيد الناتجة عن التعبير عنها في كل من بدائيات النوى (a) وحقيقيات النوى (b).

أثبتت العلاقةَ الخطية بين تتاليات الجين وتتاليات الأحماض الأمينية التي ترمّزها عدّةُ تجارب مفتاحية أساسية عبر تطفير Mutating الدنا وملاحظة التغيّر الحاصل في النمط الظاهري للبروتينات المطفَّرة، حيث كان الارتباط مباشراً بين التغير النوكليوتيدي والتغير في الحمض الأميني الناتج عن هذا التطفير. وتظهر هذه العلاقة الخطية بوضوح في بدائيات النوى إذ لا إنترونات تفصل بين التتاليات المرمّزة للأحماض الأمينية. مع ذلك، لا يلغي وجود الإنترونات في جينات حقيقيات النوى خطيّةَ هذه العلاقة، بل يغيّر فقط من التقابل الفيزيائي للتتاليات المرمّزة في شريط الدنا مع الأحماض الأمينية، وتعود هذه العلاقة للظهور بوضوح مرة أخرى بين الرنا المرسال الناضج (بعد إزالة الإنترونات) وبين تتاليات الأحماض الأمينية (الشكل 6-4).

ومن أبسط وأولى الأمراض التي تم فيها ربط حدوث طفرة وحيدة مع تغير الحمض الأميني الناتج عن تبدّل الرامِز الوراثي الخاصّ به هو فقر الدم المنجلي Sickle Cell Anemia، إذ تبدو العلاقة خطيةً وواضحةً جداً بين الطفرة النقطية Point Mutation في جين بيتا غلوبين المؤدية إلى تغيّر نوكليوتيد واحد فقط من T إلى A في الرامِز السادس، مما ينتج عنه تغيّر الحمض الأميني المشفّر بـ CTC (الحمض الغلوتامي Glu) إلى الحمض الأميني المشفّر بـ CAC (الفالين Val)، الأمر الذي يؤدّي إلى تشكّل الخضاب المنجلي Sickle Hemoglobin، وتغير شكل الكرية الحمراء إلى الشكل المنجلي بدل القرص مقعر الوجهين بالحالة الطبيعية (الشكل 6-5).



(الشكل 6-5) أثر الطفرة النقطية في الرامِز السادس لجين بيتا غلوبين في استبدال الفالين بدل الحمض الغلوتامي وتغيّر شكل الكريات الحمراء (إلى اليمين) من الشكل مقعر الوجهين إلى الشكر المنجلي (السهم).

2.6. الرامِز الوراثي أو الشيفرة الوراثية The Genetic Code

1.2.6. خصائص الرامِز الوراثي Properties of Genetic Code

حُدّدت المعالم الرئيسية للرامِز الوراثي خلال ستينيات القرن الماضي، وشملت ما يلي:

1. يتألف كل رامِز (رامِز أو رامِز) Codon من ثلاثيات نوكليوتيدية. تحدّد كل ثلاثة نوكليوتيدات من الرنا المرسال (الناضج) حمضاً أمينياً واحداً في عديد الببتيد الناتج.
2. الرامِز الوراثي غير متداخل Nonoverlapping عموماً. ينتمي كل نوكليوتيد إلى واحد فقط من الروامز، باستثناء بعض الحالات الخاصة حين تتداخل بعض الجينات وتتم قراءة التسلسل النوكليوتيدي بإطارَيْ ترجمة مختلفين.
3. الرامِز الوراثي لا يحتوي فواصل. لا توجد فواصل أو أي من علامات الترقيم الأخرى بين المناطق المرمّزة في الرنا المرسال. وخلال الترجمة، تُقرأ الروامز بشكل متتالٍ وغير متقطع.

ملاحظة: يدعى التتالي النوكليوتيدي المستمر للرنا المرسال بدءاً من الرامِز AUG إلى أحد روامز الإيقاف بإطار القراءة المفتوح للترجمة Open reading Frame أو ORF.

4. الرامِز الوراثي متعدد Degenerate. فجميع الأحماض الأمينية، إلا اثنين منها تحدَّد بأكثر من ثلاثية نوكليوتيدية، اي أكثر من رامِز.
5. الرامِز الوراثي غير ملتبس Unambiguous. يحدّد كل رامِز حمضاً أمينياً واحداً فقط.
6. الرامِز الوراثي مرتّب ومنظّم. تكون الروامز المرمّزة للحمض الأميني الواحد، وكذلك المرمّزة لأحماض أمينية متشابهة بالخصائص الكيميائية، متشابهة وتختلف عادةً بنوكليوتيد واحد.
7. تتضمّن الروامز الوراثية رامِز بدء Start Codon واحد هو AUG وثلاثة روامز توقّف Stop Codons هي UAA وUGA وUAG.
8. الرامِز الوراثي عامّ تقريباً Nearly Universal. على الرغم من وجود بعض الاستثناءات، تمتلك الروامز نفس المعنى، وتُقرأ بنفس الطريقة تقريباً في جميع الكائنات الحية، من الجراثيم إلى الإنسان.

ملاحظة: تظهر أهمية هذه الصفة لدى إنتاج بروتينات بشرية في الجراثيم عبر إدخال جين بشري فيها تعبّر عن رنا مرسال بشري لتتّم قراءته وترجمته بالشكل نفسه في الجراثيم كما في الإنسان.

2.2.6. تفسير الرامِز الوراثي Deciphering the Genetic Code

يعود الفضل في تفسير وقراءة التتاليات النوكليوتيدية في الرنا المرسال إلى مجموعة من الدراسات قام بأهمها العلماء Marshall Nirenberg وGhobind Khorana وRobert Holley الذين نالوا لذلك جائزة نوبل في الفيزيولوجيا والطب عام 1968.

كانت البداية هي في تحديد أن كل رامِز مؤلف من ثلاثة نوكليوتيدات، وقام بذلك العالم Francis Crick عام 1961 عبر عدة تجارب استخدم فيها التطفير، وانطلق من أن الروامز الوراثية يجب أن تتألف على الأقل من ثلاثة نوكليوتيدات. كما نعلم، يبلغ عدد أنواع النوكليوتيدات أربعة فقط، بينما يبلغ عدد أنواع الأحماض الأمينية 20 حمضاً أمينياً. لذلك، يجب أن يكون هنالك على الأقل 20 احتمالاً للروامز. فإذا ما افترضنا أن كل رامِز يتألف من نوكليوتيدين فقط، يكون عدد الاحتمالات الكلي لجميع الشيفرات المؤلفة من نوكليوتيدين هو4 للأس 2، أي 16 فقط، وهذا العدد غير كافٍ. أما إذا كان الرامِز مؤلفاً من ثلاثة نوكليوتيدات، يكون عدد الاحتمالات الكلي هو 4 للأس 3، أي 64، وهو عدد يزيد على عدد الأحماض الأمينية بشكل واضح.

توالت الأبحاث التي قام بها العلماء السابق ذكرهم التي بيّنت أن الرامِز هو فعلاً ثلاثي النوكليوتيدات. ولاحقاً، قام العلماء بتصنيع جزيئات رنا مرسال كيميائياً مؤلفة من تتاليات معروفة مسبقاً. وتألف أول جزيء رنا مرسال صنعي فقط من نوع واحد من النوكليوتيدات هو اليوراسيل. ونتج عن ترجمة هذا الرنا الصنعي في الجراثيم بروتين مؤلف فقط من الحمض الأميني الفينيل ألانين، واستنتج بذلك أن الرامِز المرمّز لهذا الحمض الأميني هو UUU. وهكذا، تتابعت التجارب المماثلة التي أظهرت أنّ معظم الأحماض الأمينية يرمّزها أكثر من رامِز، وأن هنالك ثلاثة احتمالات للروامز لا ينتج عن ترجمتها أي بروتين سُمّيت لاحقاً بروامز التوقف. نتج عن هذه الدراسات البارعة جدول الرامِز الوراثي (الشكل 6-6) الذي يبيّن نوع الأحماض الأمينية الناتج عن قراءة وترجمة كل من الروامز المبيّنة ضمنه.

3.6. متطلبات ترجمة الرامِز الوراثي

تتطلب العملية المعقّدة الهادفة إلى ترجمة المعلومات الجينية المحفوظة ضمن تسلسلات الدنا وبعده الرنا المرسال عددا كبيراً من الجزيئات الكبرية Macromolecules. وتشمل هذه الجزيئات:

1. أكثر من 50 عديد ببتيد وثلاثة إلى خمسة جزيئات رنا موجودة في كل ريباسة Ribosome.
2. على الأقل 20 إنزيماً يقوم كل منها بتنشيط أحد الأحماض الأمينية.
3. 40 إلى 60 جزيء رنا ناقل tRNA مختلف.
4. الكثير من البروتينات المنحلّة التي تساعد في المراحل الثلاث للترجمة؛ البدء والإطالة والإنهاء.

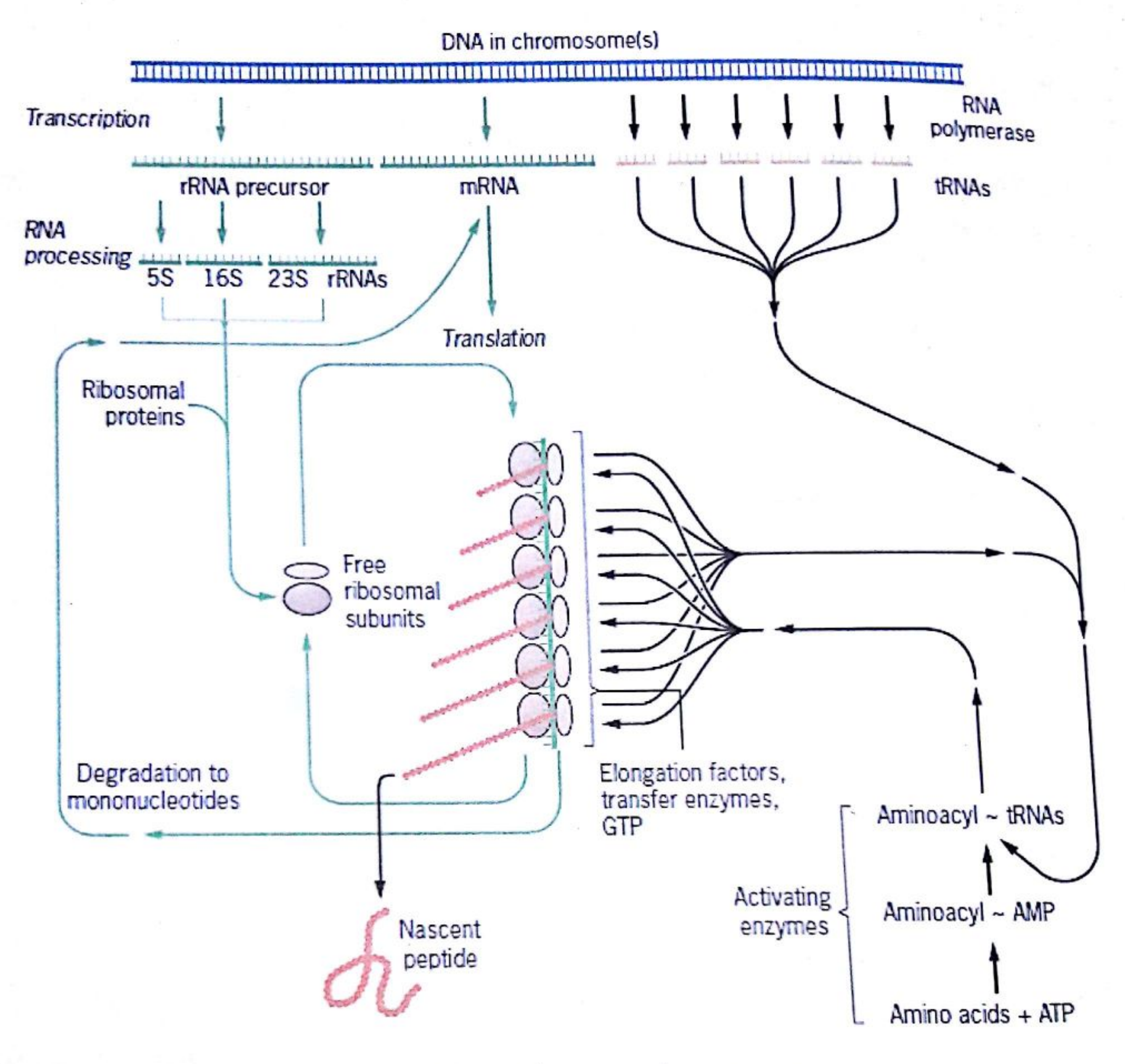
وعلى اعتبار أن الكثير من هذه الجزيئات الكبرية، ولاسيما مكونات الريباسات، توجد بكميات كبيرة ضمن كل خلية، فإنّ منظومة الترجمة تحتلّ جزءاً كبيراً من استقلاب الخلية.

First (5') letter	Second letter: U	Second letter: C	Second letter: A	Second letter: G	Third (3') letter
U	UUU Phe (F)	UCU Ser (S)	UAU Tyr (Y)	UGU Cys (C)	U
U	UUC Phe (F)	UCC Ser (S)	UAC Tyr (Y)	UGC Cys (C)	C
U	UUA Leu (L)	UCA Ser (S)	UAA Stop (terminator)	UGA Stop (terminator)	A
U	UUG Leu (L)	UCG Ser (S)	UAG Stop (terminator)	UGG Trp (W)	G
C	CUU Leu (L)	CCU Pro (P)	CAU His (H)	CGU Arg (R)	U
C	CUC Leu (L)	CCC Pro (P)	CAC His (H)	CGC Arg (R)	C
C	CUA Leu (L)	CCA Pro (P)	CAA Gln (Q)	CGA Arg (R)	A
C	CUG Leu (L)	CCG Pro (P)	CAG Gln (Q)	CGG Arg (R)	G
A	AUU Ile (I)	ACU Thr (T)	AAU Asn (N)	AGU Ser (S)	U
A	AUC Ile (I)	ACC Thr (T)	AAC Asn (N)	AGC Ser (S)	C
A	AUA Ile (I)	ACA Thr (T)	AAA Lys (K)	AGA Arg (R)	A
A	AUG Met (M) (initiator)	ACG Thr (T)	AAG Lys (K)	AGG Arg (R)	G
G	GUU Val (V)	GCU Ala (A)	GAU Asp (D)	GGU Gly (G)	U
G	GUC Val (V)	GCC Ala (A)	GAC Asp (D)	GGC Gly (G)	C
G	GUA Val (V)	GCA Ala (A)	GAA Glu (E)	GGA Gly (G)	A
G	GUG Val (V)	GCG Ala (A)	GAG Glu (E)	GGG Gly (G)	G

(الشكل 6-6) جدول الرامِز الوراثي. ويبيّن أنواع الأحماض الأمينية الناتجة عن كل من الاحتمالات الـ 64 الناتجة عن ترتيب مختلف للنوكليوتيدات الأول والثاني والثالث في الروامز الثلاثية. يمكن تمييز رامِز البدء AUG وروامز التوقف UAA، UAG، UGA.

وقبل الخوض في تفاصيل عملية الترجمة، سنقوم باستعراض بانورامي سريع للترجمة، موضحين تعقيدها ومعظم الجزيئات الكِبَرية التي تكتنف هذه العملية (الشكل 6-7).

تحدث الترجمة على الريباسات، وهي بنى كِبرية معقّدة في هيولى الخلية. تتطلب الترجمة ثلاثة أنواع من الرنا، جميعها يُنتسَخ من الدنا. إضافةً للرنا المرسال، توجد ثلاثة إلى خمسة جزيئات رنا ريباسي rRNA كجزء من بنية الريباسة، وتعمل 40 إلى 60 من جزيئات الرنا الصغيرة الناقلة tRNA كملئمات Adapters عبر تواسط إدراج الأحماض الأمينية المناسبة في عديدات الببتيد استجابةً لتتاليات الرنا المرسال النوعية.

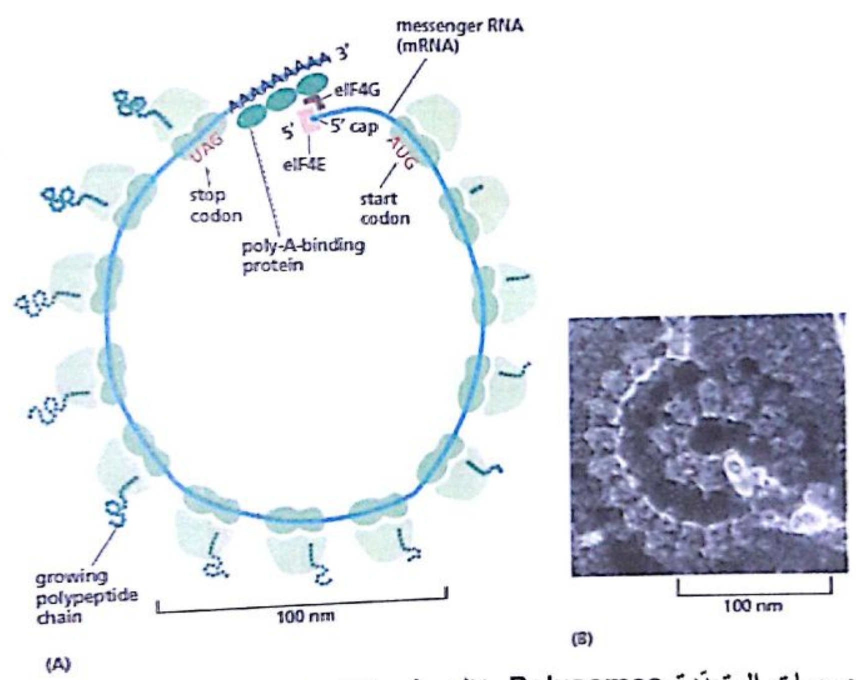


(الشكل 6–7) استعراض أنورامي لعملية الترجمة في بدائيات النوى.

ترتبط الأحماض الأمينية إلى جزيئات الرنا الناقل المناسبة بتواسط مجموعة من الإنزيمات المسماة Aminoacyl–tRNA Synthetases، ويُترجم التتالي النوكليوتيدي للرنا المرسال إلى تتالي الأحماض الأمينية تبعاً لتعليمات الرامِز الوراثية. تحتوي بعض عديدات الببتيد تتاليات قصيرة من الأحماض الأمينية عند النهايات الأمينية أو الكربوكسيلية التي تعمل كإشارات لنقل عديدات الببتيد إلى حُجُرات خلوية نوعية مثل الشبكة الإندوبلازمية والمتقدّرات والصانعات أو النواة. من جهة أخرى، تحتوي البروتينات المفرَزَة على تتالي إشارة عند النهاية الأمينية الذي يوجّه عديد الببتيد الناشئ إلى أغشية الشبكة الإندوبلازمية. كما توجد تتاليات

مشابهة على النهايات الأمينية للبروتينات التي تستهدف المتقدرات والصانعات الخضراء، وتحتوي البروتينات النووية على تتاليات عند النهايات الكربوكسيلية. وفي عدة حالات، تتم إزالة الببتيدات المستهدِفة (أو تتاليات الإشارة) إنزيمياً بتواسط ببتيدازات Peptidases نوعية بعد نقل البروتين إلى الحجرة الخلوية المناسبة.

يمكن القول أن الريباسات هي مختبرات مع آلات ومعدات لصنع البروتينات. والريباسات غير نوعية، من حيث إنها تصنع أياً من عديدات الببتيد المرمّزة بجزيء رنا مرسال محدّد، حتى لو كان مصدر هذا الرنا المرسال من نوع آخر من الكائنات الحية (كما نرى عند اصطناع البروتينات البشرية في الجراثيم). في كثير من الأحيان، تتم ترجمة جزيء الرنا المرسال نفسه بشكل متزامن من قبل عدة ريباسات، مما ينتج عنه تشكّل بنية عديدات الريباسات Polyribosomes أو الجسيمات المتعددة Polysomes (الشكل 6-8).



(الشكل 6-8) بنية الجسيمات المتعدّدة Polysomes. تظهر في (A) عدة ريباسات مرتبطة إلى جزيء الرنا المرسال، إذ تبدأ ريباسة بالارتباط على النهاية `5 للرنا المرسال ثم تسير على طول الرنا المرسال باتجاه النهاية `3، إلى أن تنهي ترجمة عديد الببتيد. وحالما تقطع الريباسة مسافة قصيرة على الرنا المرسال مغادرةً بذلك موقع بدء الترجمة، ترتبط في موقع البدء ريباسة أخرى تشرع هي أيضاً بترجمة الرنا المرسال وتلحق بزميلتها بالاتجاه `3، وهكذا. تظهر في (B) صورة مجهرية لأحد الجسيمات المتعدّدة.

وبعد هذا العرض السريع سنتفحّص الآن بعض المكوّنات الأهم لمنظومة الترجمة بشيء من التفصيل.

1.3.6. الريباسات Ribosomes

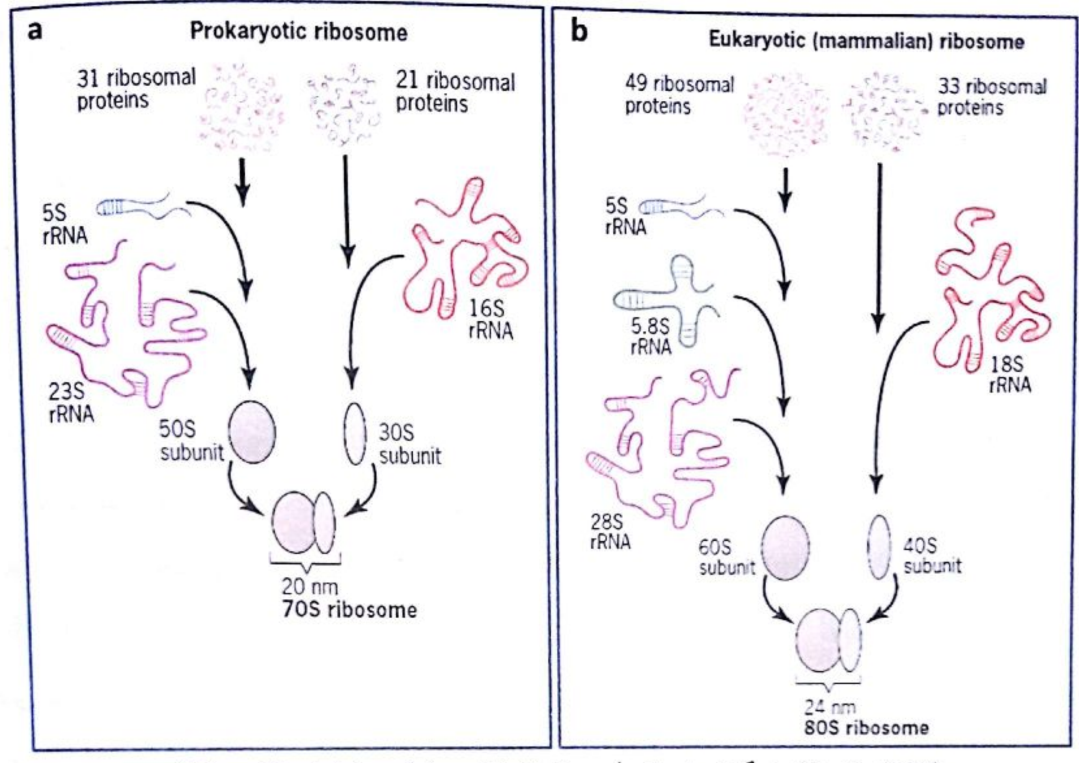
تخصّص المنظومات الحيّة جزءاً كبيراً من طاقتها لاصطناع بروتيناتها، أكبر قدراً من أي من الأوجه الأخرى للاستقلاب. وتقريباً، يتكوّن ثلث الكتلة الجافة لمعظم الخلايا من جزيئات تساهم بشكل مباشر في اصطناع البروتينات. في جراثيم E. coli، تشكّل 200,000 ريباسة نحو 25% من الوزن الجاف للخلية. ويعكس هذا الالتزام من قبل الخلية باصطناع البروتينات أهمية هذه الجزيئات لحياة الكائنات الحية. في بدائيات النوى، تنتشر الريباسات في أرجاء الخلية، بينما تتوضّع الريباسات عند حقيقيات النوى في الهيولى، وبشكل مكثّف على الوجه الهيولي لأغشية الشبكة الإندوبلازمية.

تتكوّن الريباسات من نحو 50% بروتين و50% جزيئات رنا، وتتألف من وُحَيْدَتين، كبيرة وصغيرة، ينفكُّ بعضهما عن بعض عند انتهاء ترجمة الرنا المرسال وتعود للارتباط خلال بدء الترجمة.

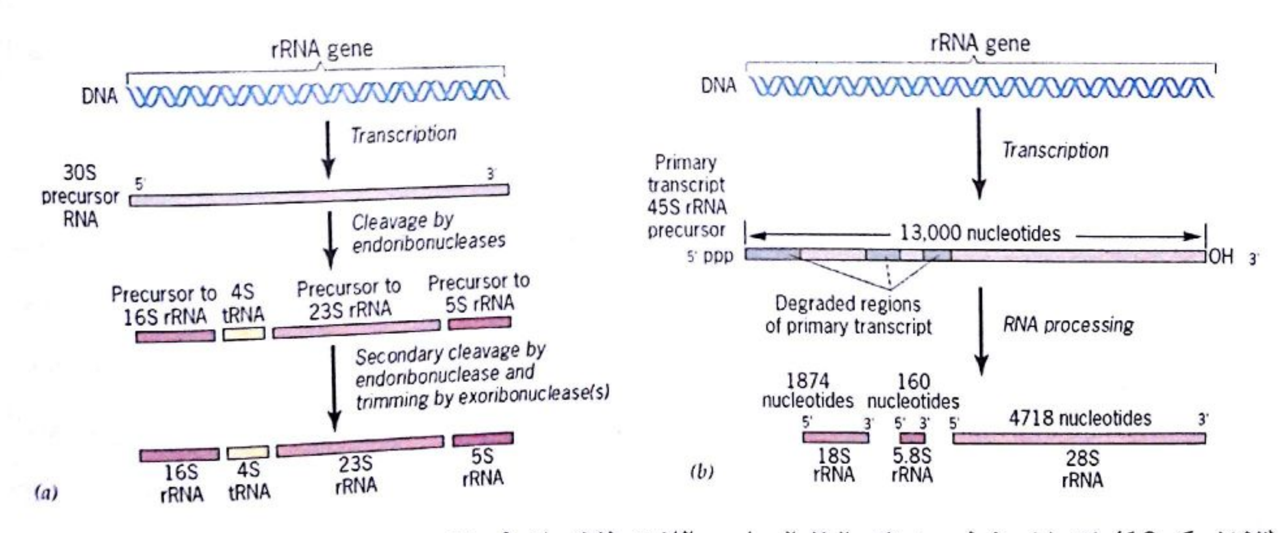
تتألف كل وحَيْدة من جزيء رنا كبير مطوي تتجمّع عليه البروتينات الريباسية Ribosomal Proteins. يتم عادةً التعبير عن حجوم الريباسات نسبةً لسرعة تسدّمها Sedimentation خلال عملية التثفيل Centrifugation باستخدام واحدات سفيدبرغ Svedberg أوUnits S. تملك ريباسة جراثيم E. coli، كغيرها لدى بدائيات النوى، وزناً جزيئياً نحو2.5 مليون دالتون، بوحدة تسدّم 70S وبأبعاد 20X25 نانومتر. تكون الريباسة لدى حقيقيات النوى أكبر، نحو80S، على الرغم من أن حجمها يختلف بين نوع وآخر. أما ريباسات المتقدّرات والصانعات الخضراء في حقيقيات النوى فتكون أصغر حجما، نحو60S. وعلى الرغم من الاختلافات في الحجوم، فإنّ البنية ثلاثية الأبعاد للريباسات هي نفسها في جميع الكائنات الحية. تحتوي الوحَيْدة الصغيرة (30S) في جراثيم E. coli على جزيء رنا ريباسي 16S مع 21 عديد ببتيد مختلف، وتحتوي الوحَيْدة الكبيرة (50S) على جزيئين رنا ريباسي (5S) و(23S) إضافةً إلى 31 عديد ببتيد. في ريباسات الثدييات، تحتوي الوحَيْدة الصغيرة على جزيء رنا ريباسي (18S) إضافةً إلى 33 عديد ببتيد والوحَيْدة الكبيرة على 3 جزيئات رنا ريباسي هي (5S) و(5.8S) و(28S) إضافةً إلى 28 عديد ببتيد (الشكل 6-9).

تُنتسَخ جزيئات الرنا الريباسي rRNAs، كمثيلاتها في الرنا المرسال، من الدنا المرصاف. يحدث اصطناع rRNA في حقيقيات النوى داخل النوية Nucleolus بتواسط إنزيم بوليميراز الرنا Pol I، وبحيث تكون النويّة جزءاً كثيفاً جداً من النواة تتخصّص في اصطناع جزيئات الرنا الريباسي وتجميعه مع البروتينات الريباسية. تكون جينات الرنا الريباسي في الدنا على شكل مصفوفات متعاقبة ومتجاورة تفصلها مناطق غير حاوية على جينات. وتُنتسخ جينات الريباسات على شكل طلائع رنا ريباسي rRNA Precursors تخضع لاحقاً لشطر لاحق للانتساخ Post-transcriptional Cleavage إلى جزيئات rRNA ناضجة أصغر حجماً. في جراثيم E. coli، تكون طليعة rRNA بحجم 30S ينتج عن شطرها الإنزيمي 5S و16S و23S إضافةً إلى

جزيء رنا ناقل 4S tRNA. أما في الثدييات، فتنتج الجزيئات 5.8S و18S و28S عن شطر طليعة حجمها 45S، بينما ينتج 5S عن شطر طليعة rRNA لجين مختلف آخر (الشكل 6−10).



(الشكل 6−9) بنية الريباسات في بدائيات النوى (a) وحقيقيات النوى (b).



(الشكل 6−10) انتساخ وشطر جزيئات الرنا الريباسي اللاحق للانتساخ في كل من بدائيات النوى (a) وحقيقيات النوى (b).

توجد جينات الرنا الريباسي بعدة نسخ في مجائن Genomes جميع الكائنات الحية المدروسة إلى الآن. ولا يعدّ هذا التكرار مدهشاً بالنظر إلى العدد الكبير من الريباسات الموجود داخل الخلايا الحية. ففي الـ E. coli،

تنتشر 7 جينات rRNA في 3 مواقع مختلفة لصبغي الخلية الوحيد، بينما يتراوح عدد نسخ جينات الرنا الريباسي في حقيقيات النوى بين مئات وآلاف النسخ متوزعة بين عدة صبغيات. وفي الإنسان، توجد مواقع جينات الرنا الريباسي (5.8S, 18S, 28S) في الصبغيات 13 و14 و15 و21 و22، بينما توجد مواقع جينات 5S في عدة صبغيات أخرى.

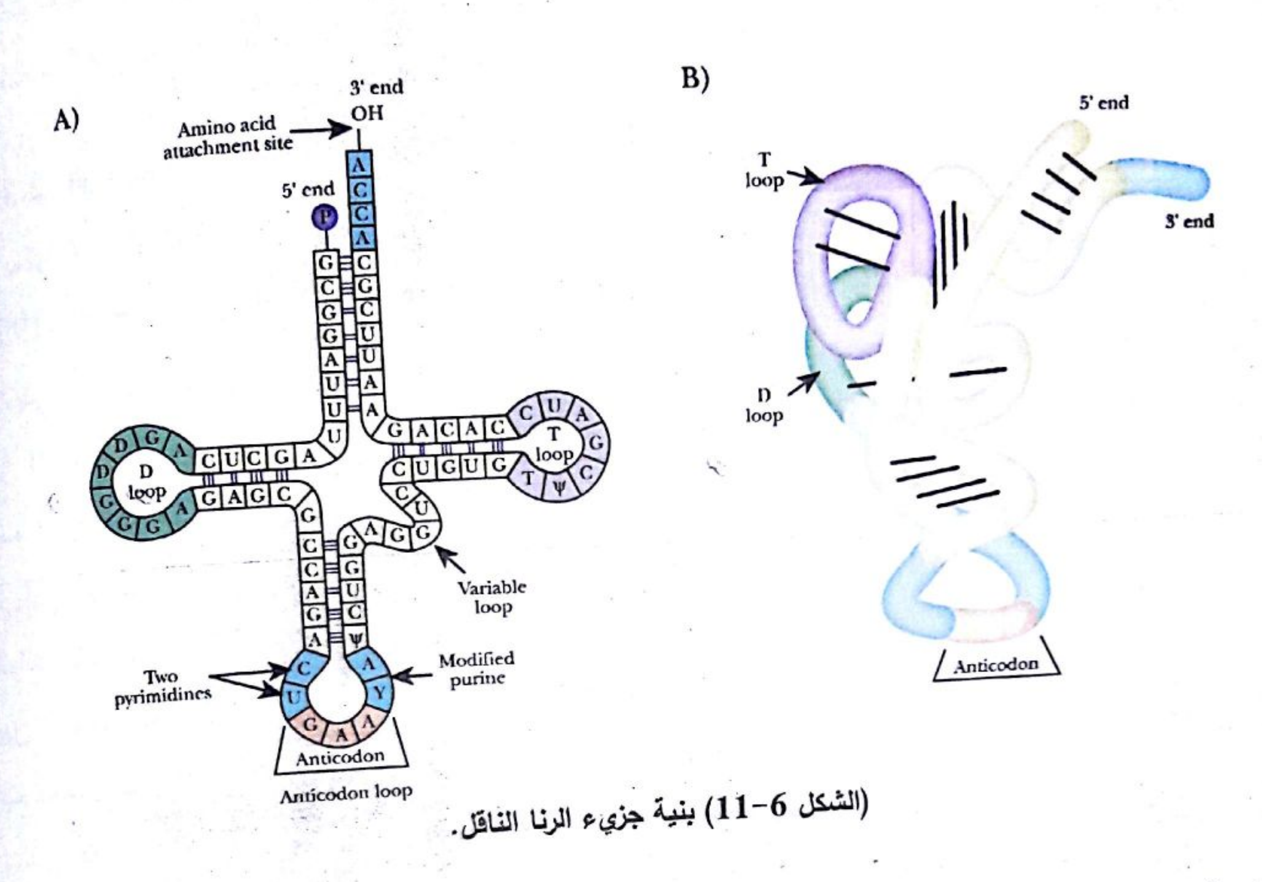
2.3.6. الرنا الناقل (tRNAs) Transfer RNAs

لا يمكن لاعتبارات كيميائية حصول تآثر مباشر بين الأحماض الأمينية وبين روامز الرنا المرسال. في عام 1958، اقترح العالم Francis Crick وجود نوع من المُلئِمات Adaptors التي تتواسط ربط نوع الحمض الأميني بالرامِز النوعي المشفّر له. ولاحقاً، حدّدت هذه الملئمات أنها جزيئات رنا يبلغ حجمها 4S وطولها بين 70 و95 نوكليوتيداً، أطلق عليها اسم جزيئات الرنا الناقل Transfer RNAs (الشكل 6-11). تحتوي هذه الجزيئات على تتالي نوكليوتيدي ثلاثي، سُمّي بالرامِز المعاكس Anticodon، وهو متمّم لتتالي أحد الروامز في جزيء الرنا المرسال، يتشافع معها خلال الترجمة. هنالك واحد إلى 4 جزيئات رنا ناقل لكل من أنواع الأحماض الأمينية العشرين. ترتبط الأحماض الأمينية بجزيئات الرنا الناقل عبر روابط عالية الطاقة بين المجموعات الكربوكسيلية للأحماض الأمينية والنهاية الهدروكسيلية `3 لجزيئات tRNAs.

يتم تحميل Charging الحمض الأميني على جزيء الرنا الناقل عبر خطوتين يتواسطتهما نفس الإنزيم الذي يدعى Aminoacyl-tRNA Synthetase؛ يتم في الخطوة الأولى تفعيل الحمض الأميني مع حلمهة جزيء ATP وفي الخطوة الثانية يتم ربط الحمض الأميني المفعَّل إلى النهاية `3 للرنا الناقل. وأخيراً، يحدد التتالي النوكليوتيدي في الرامِز المعاكس لجزيء الرنا نوعية كل من جزيء الرنا الناقل نفسه ونوع الحمض الأميني المحمّل عليه. أي وإن جاز التعبير، يقرأ إنزيم Synthetase السابق ذكره الرامِز المعاكس للرنا الناقل، ويفهم من ذلك طبيعة الحمض الأميني الذي يجب تحميله على جزيء الرنا الناقل نفسه.

تُنتسَخ جزيئات الرنا الناقل، كما هوالحال بالنسبة للرنا الريباسي، على شكل طلائع تخضع لاحقاً لعمليات عدّة كالشطر والمثيلة وتعديل بعض الأسس النوكليوتيدية. في الواقع، يحتوي جزيء الرنا الناقل على عدة نوكليوتيدات غير اعتيادية كالإنوزين Inosine والبسودويوريدين Pseudouridine والديهيدرويوريدين Dihydrouridine ومتيل الغوانوزين 1-Methyl Guanosine، الناتجة جميعاً عن تحوير كيميائي للنوكليوتيدات الأساسية الأربع. حُدّد التتالي النوكليوتيدي لجزيء الرنا الناقل وبنيته المشابهة لورقة نبات البرسيم من قبل العالم Robert Holley الذي حاز بذلك جائزة نوبل في الفيزيولوجيا والطب عام 1965 (الشكل 6-11).

يقع الرامِز المعاكس في عروة قرب وسط جزيء الرنا الناقل. ويتطلب تعرّف وتشافع Base Pairing الرامِز المعاكس مع رامِز الرنا المرسال النوعي له حساسيةً عالية تؤمّنها البنية الفراغية لوُحَيْدات الريباسات الكبيرة، كما سنرى لاحقاً.



(الشكل 6-11) بنية جزيء الرنا الناقل.

4.6. أطوار ترجمة الرامِز الوراثي Phases of Genetic Code Translation

بعد استعراض المكوّنات المختلفة الضرورية لاصطناع البروتين، يمكننا الآن تناول هذه العملية المعقّدة بشيء من التفصيل، مع الأخذ بعين الاعتبار العناوين العريضة التالية:

- يحدّد التتالي النوكليوتيدي للرنا المرسال نوعيّة الأحماض الأمينية المندرجة في تسلسل عديد الببتيد.
- تبدأ ترجمة جزيئات الرنا المرسال عند رامِز البدء AUG الذي تسبقه صُعُداً تتاليات تدعى التتاليات \`5 غير المترجمة Untranslated أو \`5 UTR، وتنتهي الترجمة عند إحدى روامز التوقف Stop Codons الثلاثة التي تليها نُزُلاً تتاليات تدعى التتاليات \`3 غير المترجمة أو UTR \`3.
- تزوّد الريباسة عملية الاصطناع بالجزيئات الكِبَرية الضرورية لعملية الترجمة.
- تمثّل جزيئات الرنا الناقل المُلْئِمات المناسبة لإدراج الأحماض الأمينية المناسبة لتسلسل روامز الرنا المرسال.

- تحتوي كل ريباسة على ثلاثة مواقع لارتباط الرنا الناقل؛ الموقع A أوAminoacyl Site، ويربط الرنا الناقل الآتي إلى الريباسة والمحمّل Charged بالحمض الأميني؛ والموقع P أو Peptidyl Site، الذي يربط الرنا الناقل المحمّل بسلسلة عديد الببتيد الآخذة في الازدياد حجماً؛ والموقع E أوExit Site، الذي يربط الرنا الناقل "الفارغ" المغادر للريباسة والخالي من الحمض الأميني.
- تشترك بدائيات وحقيقيات النوى بمعظم تفاصيل وآليات الترجمة، مع وجود بعض الاختلافات، إنْ من حيث بنية الريباسات أو العوامل البروتينية المساعدة في هذه العملية.
- تُقسم عملية اصطناع البروتين إلى ثلاثة أطوار؛ البدء والإطالة والإنهاء مع تحرّر البروتين الناتج من معقّد الترجمة Translation Complex.

وسنتناول فيما يلي الأطوار الثلاثة المشكّلة لعملية الترجمة.

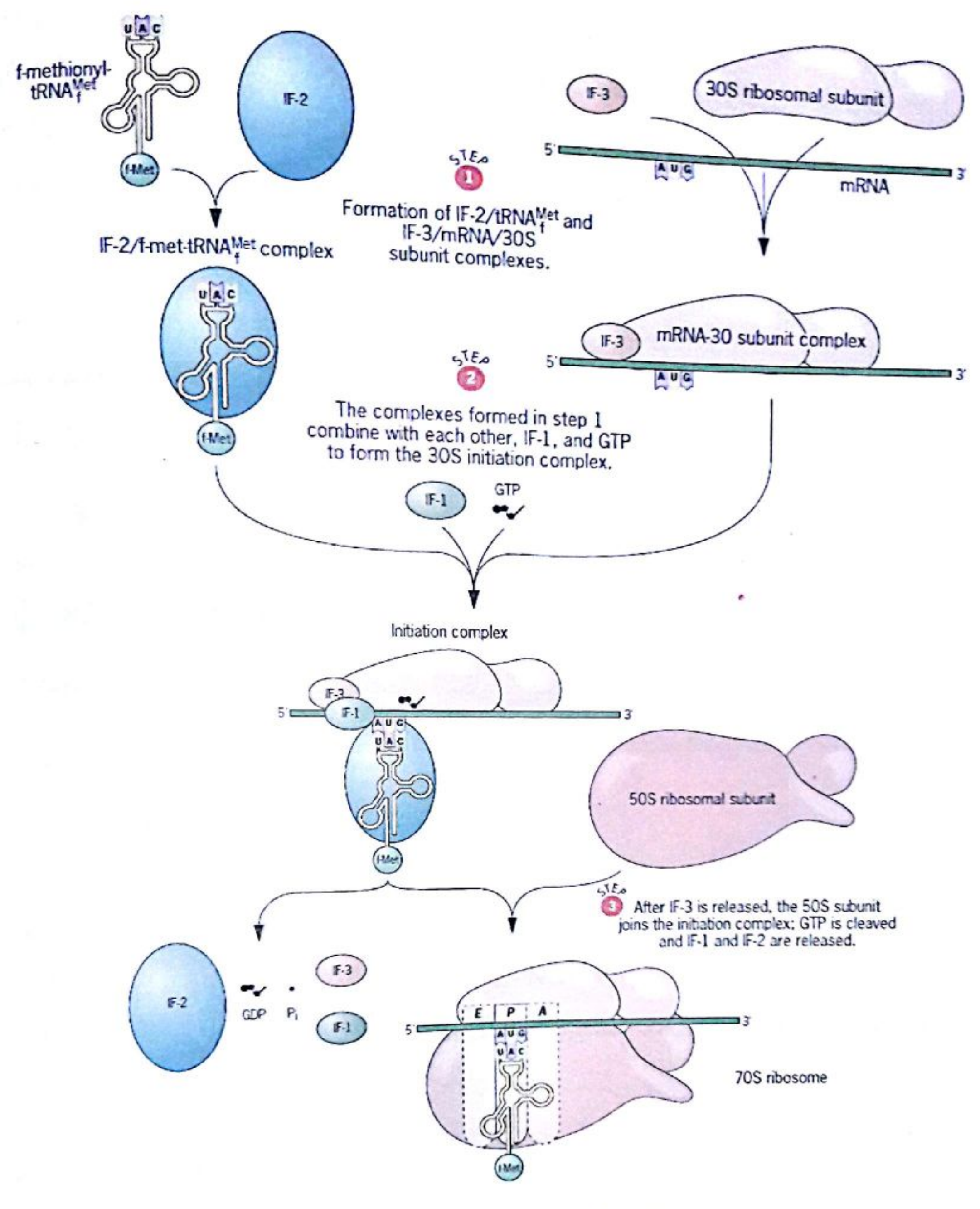
1.4.6. طور البدء Initiation Phase

يتضمن هذا الطور جميع الأحداث التي تسبق تشكّل الرابطة الببتيدية التي تربط بين الحمضين الأول والثاني في سلسلة عديد الببتيد. ويمكننا توصيف هذا الطور أولاً في بدائيات النوى قبل أن نسرد بعض الاختلافات بينها وبين ما يحدث في حقيقيات النوى.

يتطلب البدء بعملية الترجمة في جراثيم E. coli الوحَيْدة 30S وجزيء tRNA بادئ، ورنا مرسال، وثلاثة من عوامل البدء Initiation Factors هي IF1 وIF2 وIF3، وجزيئاً واحداً من GTP (الشكل 6-12).

في المرحلة الأولى لبدء الترجمة تتآثر الوحيدة الصغيرة 30S مع كل من جزيء الرنا المرسال وعوامل البدء. ثم تنضمّ إليها الوحيدة الكبيرة 50S لتشكّل الوحدة الكاملة للريباسة 70S في الخطوة الأخيرة لطور البدء. يبدأ اصطناع عديد الببتيد بانخراط الرنا الناقل الأول المحمّل بالحمض الأميني الميثيونين (Methyonyl-tRNA) والحامل لتتالي الرامِز المعاكس `3`UAC5 المتمم والمقابل بالإشارة لرامِز البدء `5`AUG3.

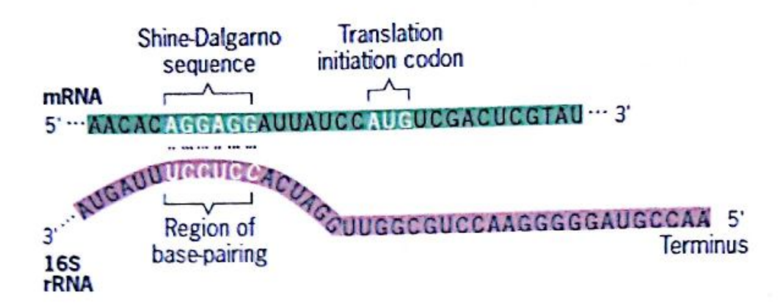
ملاحظة: تبدأ جميع عديدات الببتيد في بدائيات النوى بالحمض الأميني الميثيونين Methionine الذي أجري له تعديل بإضافة مجموعة فورميل ليصبح اسمه فورميل ميثيونين أوfMet. مع ذلك، يتم شطر الحمض الأميني الأول (الميثيونين) من عدد كبير من عديدات الببتيد لاحقاً لانتهاء الترجمة، وبذلك فليس من الضروري أن يكون الحمض الأول في جميع البروتينات الوظيفية هو الميثيونين.



(الشكل 6–12) طور بدء الترجمة.

يبدأ طور البدء بتشكيل معقدين اثنين؛ يضمّ الأول عامل البدء IF2 والرنا الناقل المحمّل بالميثيونين، بينما يضم الثاني جزيء الرنا المرسال ووحيدة الريبوزوم 30S وعامل البدء IF3. يتحكّم العامل IF3 بقدرة الوحيدة 30S بالبدء، ويعتمد تشكيل المعقّد 30S مع الرنا المرسال على تشافع تتالي نوكليوتيدي موجود عند النهاية `3 لـ 16S rRNA (المتضمن في 30S) مع تتالي نوكليوتيدي موجود عند النهاية `5 للرنا المرسال يدعى بتتالي Shine Dalgarno نسبة لمكتشفه في القسم غير المترجم للرنا المرسال 5` Untranslated region

أو اختصاراً `5 UTR (الشكل 6-13). ينضم لاحقاً معقّد IF2 – ميثيونيل tRNA مع معقّد mRNA-IF3-30S بعضهما مع بعض ثم مع عامل البدء IF1 وجزيء GTP لتشكيل معقّد 30S الكامل. تكون الخطوة الأخيرة في طور البدء في انضمام الوُحَيْدة 50S إلى معقّد 30S الكامل لتشكيل الريبوزوم 70S الذي يسبق تحرر عوامل البدء الثلاثة وحلمهة جزيء GTP إلى GDP وفسفات لا عضوية (Pi).



(الشكل 6-13) تشافع تتالي Shine Dalgarno في الرنا المرسال مع التتالي المتمم له في الرنا الريباسي 16S.

تقوم إضافة الوحيدة 50S إلى المعقّد بإرساء الميثيونيل tRNA في موقع الببتيديل P (P Site) حيث يتشافع الرامِز المعاكس للرنا الناقل مع رامِز البدء AUG. وهكذا، فإنّ الميثيونيل tRNA هو الرنا الناقل الوحيد الذي يدخل الريبوزوم في الموقع P بشكل مباشر دون المرور أولاً بالموقع A. وأخيراً، ومع تموضع رامِز البدء للرنا المرسال في الموقع P، يكون الرامِز التالي في الموقع A، مما يؤهب لارتباطه برنا ناقل يحتوي على رامِز معاكس نوعي له ويؤسّس لطور الإطالة.

يكون طور البدء في حقيقيات النوى أكثر تعقيداً مما سبق، متضمّناً الكثير من عوامل البدء. مع ذلك، فإن عملية بدء الترجمة تكون مماثلة بصورة عامة لتلك التي تحدث في بدائيات النوى مع استثناءين اثنين؛ 1) يكون الميثيونين غير معدّل في حقيقيات النوى، ولا يضاف له جذر الفورميل.

2) يتشكّل معقّد البدء في النهاية `5 للرنا المرسال دون وجود تتالي Shine Dalgarno، كما هو الحال في E. coli. في الواقع، تبدأ الترجمة في حقيقيات النوى عند أقرب تتالي AUG إلى النهاية `5 للرنا المرسال. يرتبط الميثيونيل tRNA مع عامل بدء ويدخل الموقع P مباشرةً، كما هو الحال في E. coli. من جهةٍ أخرى، يرتبط بروتين رابط للقلنسوة Cap-Binding Protein أو(CBP) إلى القلنسوة 7-methyl guanosine عند النهاية `5 للرنا المرسال (أنظر الفصل الخامس). إثر ذلك، ترتبط عوامل بدء أخرى إلى معقّد CBP-mRNA ثم بوحيدة 40S. يتحرّك كامل المعقّد بالاتجاه `5 إلى `3 باحثاً عن رامِز AUG، وحين يجده، تتحرر عوامل البدء من المعقّد وترتبط الوحيدة 60S إلى معقّد -Methionyl

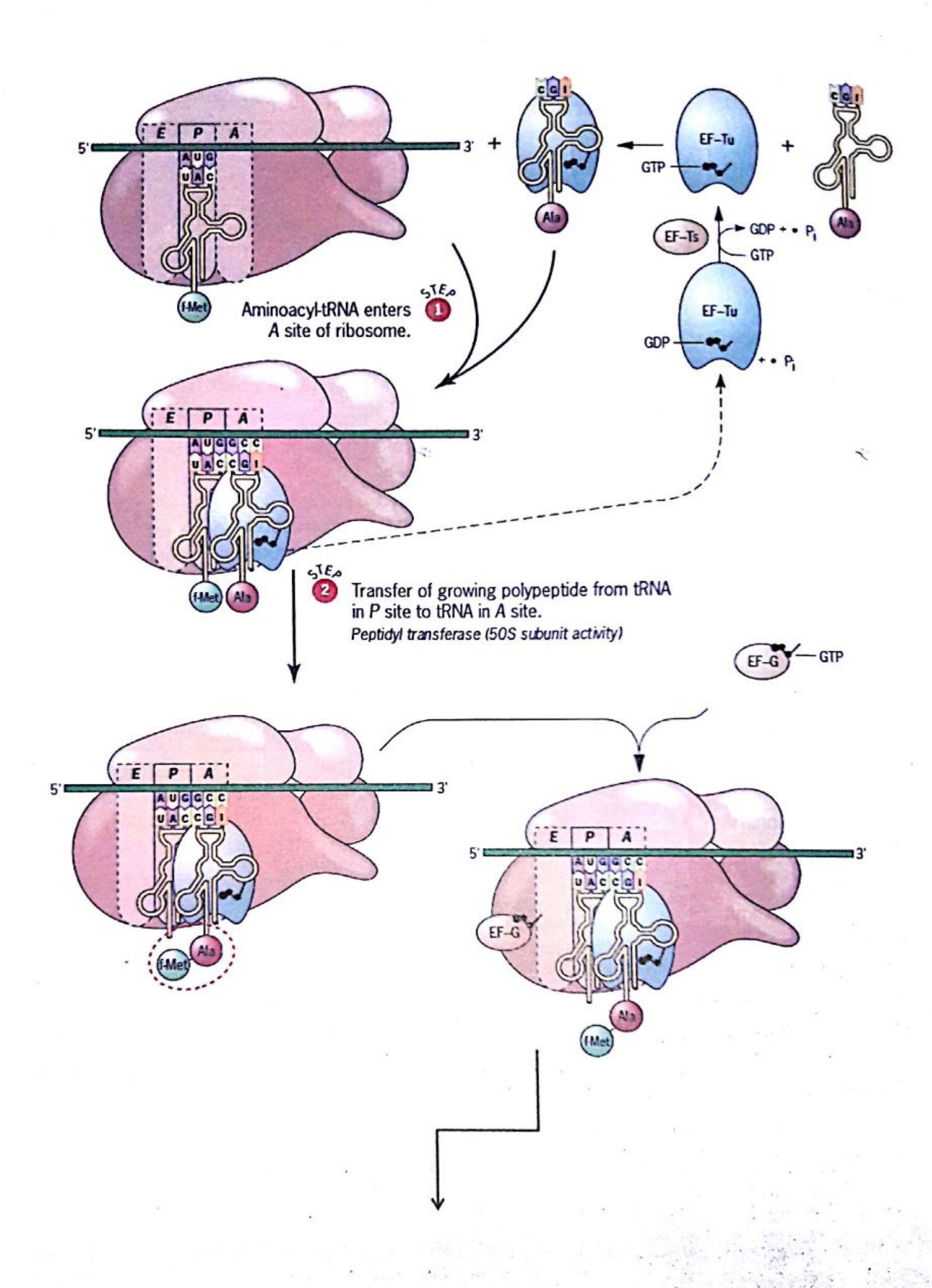
tRNA/mRNA/40S لتشكيل الريبوزوم 80S الكامل. يكون المعقّد 80S/mRNA/tRNA جاهزاً لطور الإطالة.

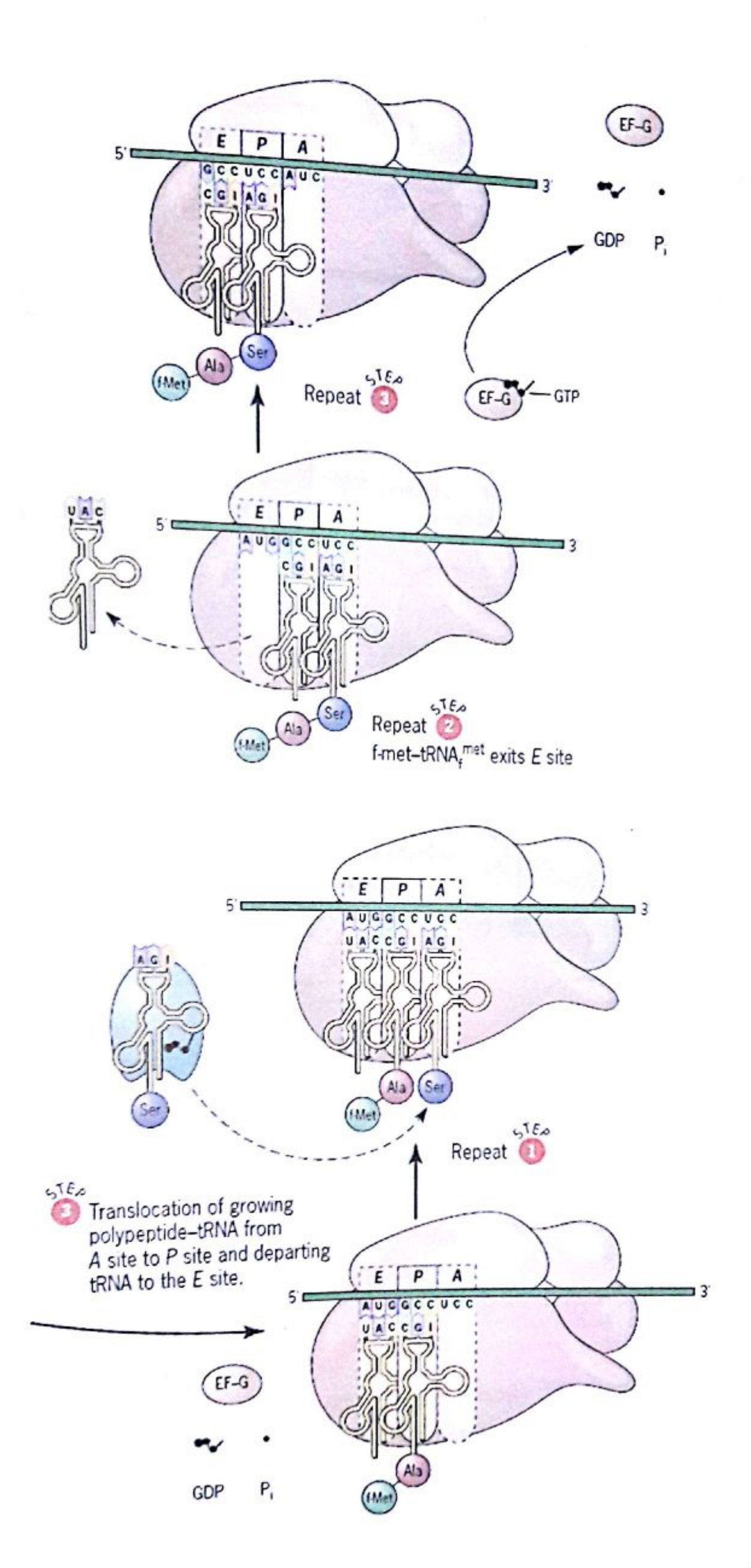
2.4.6. طور الإطالة Elongation Phase

يكون طور الإطالة نفسه عند كل من بدائيات وحقيقيات النوى مع اختلاف عوامل الإطالة Elongation Factors. تحدث إضافة كل من الأحماض الأمينية إلى سلسلة عديد الببتيد عبر ثلاث خطوات؛ 1) ارتباط الرنا الناقل المحمّل بالحمض الأميني (Aminoacyl–tRNA) إلى الموقع A في الريباسة، 2) نقل سلسلة عديد الببتيد من جزيء الرنا الناقل في الموقع P إلى الرنا الناقل في الموقع A عبر تشكيل رابطة ببتيدية جديدة، 3) انتقال الريباسة على طول جزيء الرنا المرسال حيث يتوضّع الرامِز التالي في الموقع A. وفي هذه الخطوة الثالثة أيضاً، ينتقل الرنا الناقل المحمّل بسلسلة عديد الببتيد من الموقع A إلى الموقع P، بينما ينتقل الرنا الناقل "الفارغ" من الموقع P إلى الموقع E (الشكل 6–14). تتم إعادة الخطوات الثلاث بشكل دورات متكرّرة خلال طور الإطالة.

في الخطوة الأولى في E. coli، يدخل أحد الـ Aminoacyl–tRNA الريباسة ويرتبط في الموقع A، وتحدّد ذلك نوعية الرامِز المعاكس الذي يملكه التي تمكّنه من الارتباط إلى رامِز الرنا المرسال الموجود في الموقع A. تتطلّب هذه الخطوة عامل الإطالة Elongation Factor Tu أو EF–Tu الذي يحمل جزيء GTP. وبعد حلمهة الـ GTP يتحرر معقد EU–Tu–GDP من الريباسة. في الخطوة الثانية، يتم تشكيل رابطة ببتيدية بين النهاية الأمينية للحمض الأميني المحمّل على الرنا الناقل في الموقع A والنهاية الكربوكسيلية لسلسلة عديد الببتيد المحمّل في الموقع P، حيث تنتقل كامل السلسلة الببتيدية من الموقع P إلى الموقع A. يُحفَّز تشكيل الرابطة الببتيدية السابقة بتواسط الفعالية الإنزيمية الناقلة للببتيد Peptidyl Transferase Activity التي يتمتع بها جزيء الرنا الريباسي 23S rRNA المتضمَّن في الوحيدة 50S. يتطلب تشكيل الرابطة الببتيدية أيضاً حلمهة جزيء GTP الذي أتى به عامل البدء EF–Tu في الخطوة الأولى.

ملاحظة: تكون الفعالية الإنزيمية المشكلة للرابطة الببتيدية هي في جزيء الرنا الريباسي 23S، وليس في البروتينات الريباسية، وهي إحدى الأمثلة الصارخة عن امتلاك جزيئات الرنا فعالية إنزيمية.


E
P
A
5'
3'
+
EF–Tu
GTP
EF–Ts
GDP + • P_i
GDP
+ • P_i
Ala
f-Met
Aminoacyl-tRNA enters
A site of ribosome.
STEP 1
STEP 2
Transfer of growing polypeptide from tRNA
in P site to tRNA in A site.
Peptidyl transferase (50S subunit activity)
EF–G



(الشكل 6-14) طور إطالة الترجمة. (ملاحظة: القسم الثاني من الشكل يسير من الأسفل إلى الأعلى)

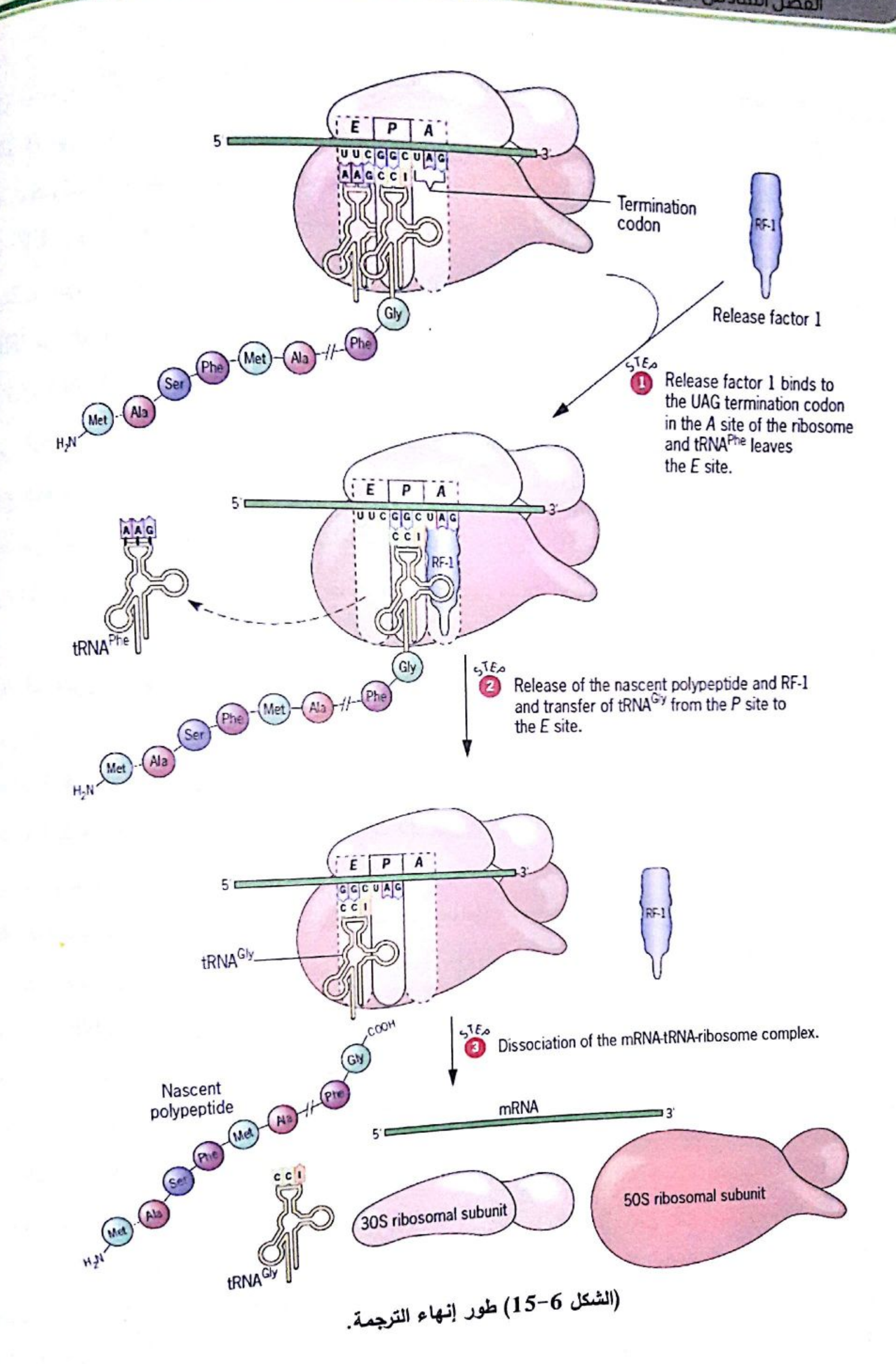
خلال الخطوة الثالثة لطور الإطالة، ينتقل الرنا الناقل المحمّل بالببتيد (أوPeptidyl-tRNA) الموجود في الموقع A إلى الموقع P، والرنا الناقل الفارغ إلى الموقع E. يحدث ذلك مع انتقال كامل معقّد الريباسة 70S ثلاثة نوكليوتيدات باتجاه النهاية `3 للرنا المرسال. تتطلّب خطوة الانتقال جزيء GTP وعامل الإطالة G أوEF-G. يحدث تغيّر في هيئة Conformation الريبوزوم خلال عملية انتقاله على طول جزيء الرنا المرسال، وتؤمن حلمهة جزيء الـ GTP الطاقة اللازمة لذلك. من جهةٍ أخرى، يؤدي انتقال Peptidyl-tRNA من الموقع A إلى P إلى بقاء الموقع A شاغراً يحتوي فقط الرامِز التالي للرنا المرسال الذي يستعد لاستقبال Aminoacyl-tRNA جديد يمتلك الرامِز المعاكس النوعي له، وتبدأ بذلك دورة الإطالة التالية.

وعلى الرغم من تعقيد الخطوات الثلاث، فإن هذه الخطوات تحدث بسرعة كبيرة جداً. ففي E. coli، تتطلب جميع الخطوات الثلاث (دورة إطالة) اللازمة لإضافة حمضٍ أميني جديد واحد إلى سلسلة عديد الببتيد 0.05 جزءاً من الثانية. وهكذا، يتطلب اصطناع عديد ببتيد يحتوي 300 حمضاً أمينياً 15 ثانية فقط. ومع الأخذ بعين الاعتبار دقة وفعالية منظومة الترجمة، فإن ذلك يعدّ مذهلاً حقاً.

3.4.6. طور الإنهاء Termination Phase

ينتهي طور الإطالة حين يدخل أي من روامز التوقف Stop Codons الثلاثة (UAA, UGA, UAG) إلى الموقع A في الريبوزوم (الشكل 6-15). في الواقع، لا توجد أي جزيئات رنا ناقل تحتوي على روامز معاكسة يمكنها التشافع Base Pairing مع أي من روامز التوقف. وحين يصل أحد روامز التوقف إلى الموقع A، تتوقف الريباسة لفترة قصيرة جداً منتظرةً رنا ناقل محمّل بحمض أميني جديد، الذي لن يأتي. في غضون ذلك، تتعرف على روامز التوقف بروتينات تدعى بعوامل الإطلاق Release Factors أو RFs تمتلك بنية فراغية شبيهة ببنية الرنا الناقل تُمكّنها من الدخول والارتباط في الموقع A. يوجد في جراثيم E. coli عاملا إطلاق RF1 وRF2. يتعرّف RF1 على الرامِزين UAA وUAG ويتعرّف RF2 على UAA وUGA، بينما يوجد في حقيقيات النوى عامل إطلاق وحيد Eukaryote RF أوeRF يتعرّف على روامز التوقف الثلاثة. يغيّر ارتباط عامل الإطلاق في الموقع A فعالية الببتيديل ترانسفيراز للـ 16S rRNA، إذ يضيف جزيء ماء إلى النهاية الكربوكسيلية لسلسلة الببتيد. يطلق هذا التفاعل عديد الببتيد من جزيء الرنا الناقل في الموقع P ويحفّز انتقال الرنا الناقل الفارغ إلى الموقع E.

وأخيراً، يكتمل طور إنهاء الترجمة مع إطلاق جزيء الرنا المرسال من الريباسة وتفكّكها إلى وُحَيْدتيها المنفصلتين. تكون بعدها الوُحيدتان جاهزتين للشروع في عملية ترجمة جديدة للرنا المرسال نفسه أو رنا مرسال آخر يوجد قربها.



(الشكل 6-15) طور إنهاء الترجمة.

5.6. مواقع الترجمة ومصير البروتين Translation Sites & Protein Destinies

تختلف مواقع ترجمة البروتينات في الخلية بحسب الموقع الفيزيائي للبروتين ومصيره داخل الخلية. ونكون هنا أمام عدة حالات نذكرها باختصار شديد.

- **البروتينات الهيولية**، ومثالها بروتينات الهيكل الخلوي: تحصل ترجمة هذه البروتينات على الريباسات الحرة في هيولى الخلية، وغالباً على الجسيمات المتعددة Polysomes المكونة من تجمع الريباسات على جزيء الرنا المرسال نفسه (الشكل 6-8 في الأعلى).
- **بروتينات المتقدرات والصانعات الخضراء:** تحصل ترجمة بعض بروتينات هاتين العضيّتين على الريباسات الموجودة داخلهما، بينما تأتي الكثير من البروتينات الأخرى إليهما من هيولى الخلية بعد ترجمتها هناك وامتلاكها تسلسلات إشارية نوعية لهاتين العضّيتين تتواسط توجه هذه البروتينات إليهما.
- **البروتينات المفرَزة في حقيقيات النوى**، ومثالها الإنسولين: تحصل ترجمة هذه البروتينات على الريباسات المرتبطة بأغشية الشبكة الهيولية الباطنة. ويجدر التأكيد هنا أن تشكّل معقّد الريباسة 80S مع الرنا المرسال المشفِّر لهذه البروتينات والبدء بأولى خطوات الإطالة يحصل أولاً في هيولى الخلية ومن ثم يجلب التتالي الإشاري Signal Sequence في النهاية الأمينية لعديد الببتيد معقّد الترجمة إلى أغشية الشبكة الهيولية الباطنة بسبب وجود مستقبل له على الغشاء يسهّل ارتباط معقّد الريباسة – الرنا المرسال – الرنا الناقل إلى غشاء الشبكة، حيث تستمر إطالة سلسلة عديد الببتيد مع دخوله إلى لمعة الشبكة الهيولية الباطنة. يتبع ذلك شطر الببتيد الإشاري بتواسط إنزيم Signal Peptidase وتحرر عديد الببتيد إلى داخل اللمعة ومن ثم طيّه Folding وانتقاله داخل الحويصلات إلى جهاز غولجي، ومن ثم إلى غشاء الخلية قبل أن يفرَز عديد الببتيد إلى خارج الخلية.
- **بروتينات الجسيمات الحالّة (اليحلولية):** تحصل ترجمة هذه البروتينات بشكل مماثل للخطوة السابقة، أي كما في البروتينات المفرَزة، مع فارق أن جهاز غولجي في حالة الجسيمات الحالة يُعلّب هذه البروتينات ضمن حويصلات لا تنتقل باتجاه غشاء الخلية، بل تبقى داخلها لتشكّل لاحقاً الجسيمات الحالة نفسها.
- **البروتينات العابرة للغشاء الهيولي Transmembrane Proteins**. تحصل ترجمة بروتينات الغشاء، ومعظم البروتينات الأخرى في أغشية العضيات، بشكل مشابه للبروتينات المفرَزة. أي تبدأ الترجمة أولاً في الهيولى، ثم يتم جلب الريباسات إلى أغشية الشبكة الهيولية الباطنة. إلا أنّ الفارق

الجوهري بين البروتينات المفرَزة وبين البروتينات الغشائية يكمن في أن هذه الأخيرة تحتوي بدلاً من تتالي الإشارة على تتالٍ من الأحماض الأمينية الكارهه للماء يتواسط إرساء Anchoring البروتين الغشائي داخل غشاء الشبكة الهيولية الباطنة، لتتشكّل لاحقاً حويصلات تحتوي هذه البروتينات في أغشيتها، وتنتقل لتنصهر لاحقاً مع الغشاء الهيولي.

خاتمة

تعرّفنا في هذا الفصل إحدى أكثر الآليات الخلوية تعقيداً وإثارةً للدهشة، التي تحشد لها الخلية جزءاً كبيراً من جزيئاتها الكِبَرية ومن طاقتها الإنتاجية وذلك لأهمية هذه العملية في اصطناع جميع بروتينات الخلية التي تقوم بوظائفها المتعددة والمتغايرة. وميّزنا التشابه الكبير بين المراحل الأساسية للترجمة في كل من بدائيات وحقيقيات النوى، مع وجود بعض الاختلافات في العوامل الداعمة لهذه العملية.

الفصل السابع

ضبط وتنظيم التعبير الجيني

Regulation of Gene Expression

المحتويات Contents

1.7. مقدمة

تعدّ آليات تنظيم التعبير الجيني Regulation of Gene Expression من أكثر آليات الوراثة الجزيئية تنوعاً، وربما أشدّها تعقيداً في الخلية الحية. فجميع خلايا الكائنات عديدات الخلايا تحوي الجينات نفسها المتضمنة في شريط الدنا المتطابق بين جميع الخلايا. مع ذلك، يُعبَّر عن كثير من الجينات بشكل تفاضلي بين خلايا النسج المختلفة. فمثلاً، تفرز الخلايا بيتا البنكرياسية فقط الإنسولين بينما تختص الخلايا الكبدية بإنتاج بروتين الألبومين وعوامل التخثر من بين بروتينات أخرى كثيرة لا تنتجها أي من خلايا الجسم الأخرى.

وفي هذا السياق يبرز فارق جوهري بين الكائنات وحيدات الخلية Unicellular، ومنها بدائيات النوى والأوالي، وعديدات الخلية Multicellular، إذ يختلف التعبير عن الجينات بشكل جوهري. ففي جميع أفراد النوع الواحد لبدائيات النوى يختلف التعبير الجيني بين كائن وآخر حين يتعرض كلاهما لشروط بيئية مختلفة، بينما يختلف ذلك جذرياً في معظم الكائنات عديدات الخلايا التي تخضع خلاياها للتمايز، بحيث تحتفظ بعض أنواع الخلايا بنمط تعبير جيني مختلف كلياً عن النمط الخاص بخلايا أخرى.

ولا تزال كيفية تنظيم التعبير الجيني في الخلايا تشغل ذهن الباحثين منذ تأسيس مفهوم الجين في أوائل القرن الماضي حتى يومنا هذا، واقتُرح الكثير من الآليات الخلوية مدعومةً بنتائج الأبحاث الوفيرة في العقود الماضية. سنسرد في هذا الفصل بعضاً من أهم آليات تنظيم التعبير الجيني في بدائيات وحقيقيات النوى، كل على حدة.

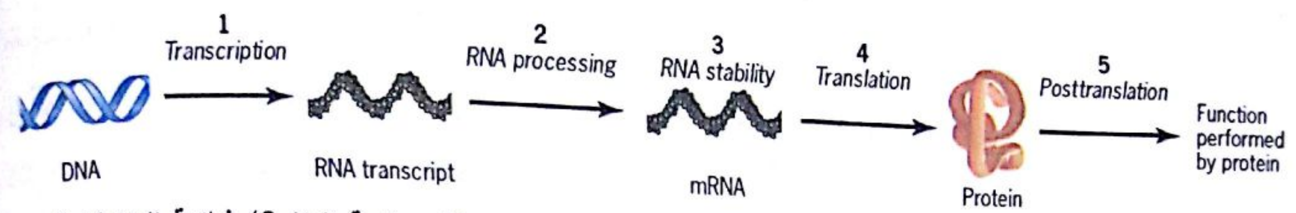
2.7. تنظيم التعبير الجيني في بدائيات النوى

Regulation of Gene Expression in Prokaryotes

تبدي الأحياء الدقيقة مقدرة مذهلة على التكيّف مع الظروف البيئية المتغايرة، وتعتمد في ذلك جزئياً على قابلية تشغيل Turn on أوإيقاف Turn off التعبير عن مجموعات معينة من الجينات استجابةً إلى تلك البيئة، حيث يتم تشغيل تلك الجينات حين تكون مطلوبة للنموواإيقافها حين لا يعود ذلك ضرورياً. يتطلب انتساخ الرنا RNA وتصنيع البروتينات الناتجة عن ترجمته صرف مقدار هائل من الطاقة. وهكذا، وعن طريق إيقاف التعبير عن بعض الجينات غير الضرورية يتمكّن الكائن الحي من توفير تلك الطاقة وتعظيم الاستفادة منها بالصورة الأمثل التي تقتضيها مرحلة النمو.

ويتم تنظيم التعبير الجيني في بدائيات النوى على عدة مستويات تظهر في (الشكل 7-1) : الانتساخ، ومعالجة الرنا RNA Processing، وتدرك الرنا RNA Turnover، والترجمة، وعمليات لاحقة للترجمة.

مع ذلك، تكون الآليات المنظّمة الأكثر تأثيراً في النمط الظاهري Phenotype للكائن الحي هي على مستوى الانتساخ بشكل أساسي.



(الشكل 7−1). مستويات تنظيم التعبير الجيني في الخلية الحية. 1) الانتساخ 2) معالجة الرنا 3) ثباتية الرنا 4) الترجمة 5) التعديلات اللاحقة للترجمة.

يمكن تصنيف الآليات المنظِّمة في فئتين اثنتين:

- الآليات التي تكتنف التشغيل أو الإيقاف السريع للتعبير الجيني، وهي مهمة بسبب التعرض المتكرر للكائن الحي للتغيرات البيئية المفاجئة. تزوّد هذه الآليات الأحياء الدقيقة بكثير من المطاوعة أو اللدونة Plasticity، وهي قابلية تعديل العمليات الاستقلابية بشكل سريع لتحقيق النمو الأعظمي والتكاثر تحت مجال واسع من الشروط البيئية.
- الآليات التي يُشار إليها بتعبير الدارات مسبقة البرمجة Preprogrammed Circuits أوشلالات Cascades من التعبير الجيني. وفي هذه الحالة، تقدح بعض الحوادث زناد التعبير عن مجموعة معيّنة من الجينات، حيث يوقِف منتج أحد تلك الجينات التعبير عن الجينات الأولى أو السابقة لتفعيل جينته أويشغِّل انتساخ مجموعة أخرى من الجينات اللاحقة لها. بعد ذلك، يشغّل أحد منتجات المجموعة الثانية من الجينات مجموعة ثالثة أخرى، وهكذا. وفي هذه الحالات، يكون التعبير المتعاقب عن بعض الجينات مبرمجاً مسبقاً، حيث لا يمكن أن تشغَّل بعض الجينات خارج هذا التتالي. وهذا النموذج من تفعيل الانتساخ موثّق في الكثير من بدائيات النوى والفيروسات التي تتغذى عليها وتعمل على حلّها وتحطيمها، التي يُطلق عليها اسم عاثيات الجراثيم Bacteriophages. فحين يُعدي أحد فيروسات العاثيات خلية جرثومية، يتم التعبير عن جينات الفيروس بصورة مبرمجة مسبقاً، حيث يرتبط ذلك بمدى مشاركة بعض الجينات في تكاثر الفيروس.

1.2.7. التعبير الجيني الدائم والمحرَّض والكَظوم

Constitutive، Induced and Repressible Gene Expression

يمكن تصنيف الجينات التي يتم تنظيم التعبير عنها عموماً إلى ثلاثة أصناف: جينات دائمة التعبير Constitutive Genes، جينات محرَّضة التعبير Inducible Genes، وجينات كظومة التعبير Repressible Genes.

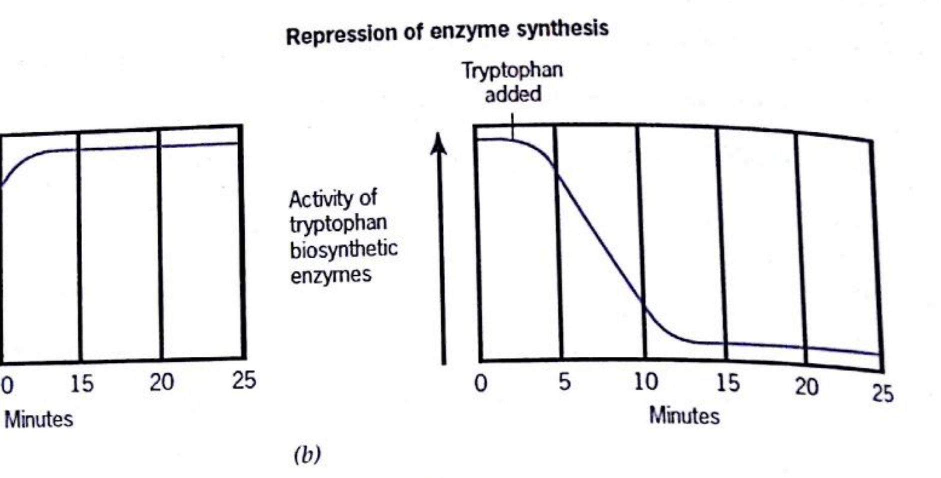
يُشار إلى الكثير من منتجات الجينات، كجزيئات الرنا الناقل tRNA والرنا الريباسي rRNA، والبروتينات الريباسية، ووُحَيدات إنزيم بوليميراز الرنا RNA Polymerase، والإنزيمات المحفزة للعمليات الاستقلابية، على أنها منتجات لجينات خَدَميَّة Housekeeping genes تقوم بخدمة الخلية في التعبير عن جميع بروتيناتها الضرورية والقيام بمجمل عملياتها الحيوية. وهذه المكوّنات ضرورية في جميع أنواع الخلايا الحية، حيث يستمر التعبير عن الجينات المسؤولة عن إنتاجها في جميع الأوقات، ويشار إليها بالجينات دائمة التعبير Constitutive Genes.

من جهة أخرى، تكون منتجات لجينات أخرى ضرورية لنموالخلية فقط تحت ظروف بيئية محددة، بحيث يكون التعبير الدائم عن هذه الجينات مضيعة للوقت ولطاقة الخلية التي يجب أن تُصرَف بالشكل الأمثل. وقد تطور الكثير من الآليات التي تمكّن الخلية من تنظيم التعبير عن هذه الجينات بحيث تنتسخ فقط حين الحاجة إليها، وهوما يفسّر كون الجراثيم والفيروسات تُبدي آليات فاعلة وكفؤة جداً في تنظيم وضبط التعبير الجيني. على سبيل المثال، تبدي جراثيم الإشريكية القولونية Escherichia coli، أو اختصاراً E. coli، ومعظم الجراثيم الأخرى قدرة على النموباستخدام الكثير من السكاكر، مثل الغلوكوز، والسكروز، والغالاكتوز، والأرابينوز، واللاكتوز كمصدر للطاقة. فإذا توافر الغلوكوز في الوسط التي تنموفيه الجراثيم يتم استقلابه بصورة مفضلة عن غيره من السكاكر. لكن، في غياب الغلوكوز تكون الجراثيم قادرة أيضاً على النموبشكل جيد مستعملة سكاكر أخرى. فالخلايا التي تنموفي وسط يحتوي على اللاكتوز كمصدر كربوني وحيد للطاقة تنتج اثنين من الإنزيمات الضرورية لذلك هما الغالاكتوزيداز Galactosidase والغالاكتوزيد بيرمياز Galactoside Permease وهما ضروريان جداً لعملية تحطيم اللاكتوز. يقوم إنزيم الغالاكتوزيد بيرمياز بضخ Pump اللاكتوز من خارج الخلية إلى داخلها، بينما يشطر إنزيم الغالاكتوزيداز اللاكتوز إلى الغلوكوز والغالاكتوز. ومن البديهي، أن كلا الإنزيمين غير ضروريين إن لم يكن اللاكتوز موجوداً في الوسط الذي تنموفيه الخلية، مع التذكير أن اصطناع هذين الإنزيمين يتطلب قدراً لا بأس به من الطاقة. وهكذا، تطورت آليات منظِّمة في جراثيم E. coli حيث يتم تشغيل الإنزيمات المحطِّمة للاكتوز في حال وجوده وإيقافها في حال غيابه. وفي البيئات الطبيعية، كلمعة الأمعاء ومياه الصرف الصحي، لا تواجه جراثيم E. coli بصورة متكررة غياب الغلوكوز ووجود اللاكتوز. ولذلك، يتوقف التعبير عن الجينات المسؤولة عن استقلاب وتحطيم

اللاكتوز في معظم الأوقات. لكن، إذا تم نقل هذه الجراثيم إلى وسط يحتوي اللاكتوز فقط، عندها تقوم الجراثيم سريعاً بتصنيع الإنزيمات اللازمة لاستقلاب اللاكتوز (الشكل 7-2a) تدعى هذه العملية التي يُشغَّل فيها التعبير عن جينات اللاكتوز بعملية التحريض Induction، وتدعى الجينات التي يتم تنظيمها بهذه الطريقة بالجينات المحرَّضة Inducible Genes وإنزيماتها المنتجة بالإنزيمات المحرضة Inducible Enzymes.

وعموماً، فإن الإنزيمات التي تكتنف سبل التقويض Catabolic Pathways، مثل تلك المشاركة في تمثّل Utilization واستقلاب اللاكتوز والغالاكتوز والأرابينوز، تكون محرَّضة. ويتم تنظيم التحريض عادةً على مستوى انتساخ جينات تلك الإنزيمات وليس على مستوى تفعيل الإنزيمات نفسها، وهي الحالة التي تحصل حين يرتبط جزيء معيّن بالإنزيم بعد إنتاجه وترجمة الرنا المرسال الخاص به مؤدياً إلى زيادة فعالية الإنزيم نفسه.

من جهة أخرى، يمكن للجراثيم أن تصطنع معظم المركبات العضوية الضرورية للنمو، مثل الأحماض الأمينية، والبورينات، والبيريميدينات، والفيتامينات. على سبيل المثال، يحتوي مَجين Genome الـ E. coli على خمس جينات يتم التعبير عنها في غياب الحمض الأميني التريبتوفان، وهي المسؤولة عن الاصطناع الحيوي Biosynthesis لهذا الحمض الأميني بحيث تُنتج مقداراً كافياً منه لاصطناع البروتينات التي تحتويه في بنيتها الأولية. وعندما تعيش الجراثيم في بيئة غنية بالتربتوفان يكون التعبير المستمر عن الجينات الخمس اللازمة لاصطناعه هدراً للطاقة. وهكذا، تطورت أيضاً آلية منظّمة في الـ E. coli لإيقاف التعبير عن الإنزيمات الضرورية لاصطناع التريبتوفان حين توفر مصادره خارج الخلايا (الشكل 7-2b) . تدعى الجين التي يوقَف التعبير عنها بالجين المُكظَمة Repressed Gene، وتدعى هذه الاستجابة بالكظم Repression. وعندما يُشغَّل التعبير عن هذه الجين، يسمى ذلك بإزالة الكظم Derepression. وعموماً، تكون الإنزيمات المسؤولة عن سبل البناء Anabolism Pathways غالباً كظومة Repressible. يكون الكظم، كما في حال التحريض، هو على مستوى انتساخ الجينات. ومن المهم هنا ألا يتم الخلط بين عملية الكظم وبين عملية التثبيط الراجع السلبي Feedback Inhibition، التي تحدث حين يرتبط ويثبّط منتج ما لسبيل استقلابي معيّن أحد الإنزيمات المسؤولة عن ذلك السبيل، ولا يؤثّر في اصطناع الإنزيم نفسه.



(الشكل 7–2). تغير تراكيز الإنزيمات المتورطة باصطناع اللاكتوز (a) كمثال عن تحريض اصطناع الإنزيمات، والتريبتوفان (b) كمثال عن تثبيط اصطناع الإنزيمات.

2.2.7. التحكم الإيجابي والسلبي بالتعبير الجيني Positive and Negative Control of Gene Expression

يمكن أن ينظّم تحريض أو كظم التعبير الجيني عبر آليات تحكّم إيجابي أو سلبي تشتمل أي منها على مساهمة جينات منظّمة Regulator Genes ترمّز بروتينات تنظّم التعبير عن جينات أخرى.

في آليات التحكّم الإيجابي، يكون منتج الجين المنظّمة ضرورياً لتشغيل التعبير عن واحدة أو أكثر من الجينات البنيوية Structural Genes المنتجة للبروتينات، بينما في آليات التحكّم السلبي، يكون منتج الجين المنظّمة ضرورياً لإيقاف التعبير عن تلك الجينات البنيوية. ويوضّح الشكل 7–3 التنظيم الإيجابي والسلبي لكل من المنظومات المحرّضة والمُكظَمة. ولشرح ذلك سنتحدث هنا عن إنزيم بوليميراز الرنا الذي يرتبط إلى منطقة المحضض ويقوم أنتساخ الرنا. يعمل منتج الجين المنظّمة عبر ارتباطه إلى موقع يدعى بموقع ربط البروتين المنظّم Regulator Protein–Binding Site أو (RPBS) المجاور لمحضض Promoter الجين البنيوي. وحين يرتبط البروتين المنظّم بموقع RPBS، يتم تشغيل التعبير عن الجين البنيوي في منظومة التحكّم الإيجابي أو يتم إيقاف التعبير عن الجين البنيوي في منظومة التحكّم السلبي. وتدعى منتجات الجين المنظّمة بالمفعّلات Activators في منظومة التحكم الإيجابي لأنها تفعّل انتساخ الجين البنيوي، وبالكاظمات Repressors في منظومة التحكّم السلبي لأنها تكظم انتساخ ذاك الجين. ويعتمد ارتباط البروتينات المنظّمة بموقع RPBS على وجود أو غياب عدد من الجزيئات الفاعلة Effector Molecules داخل الخلية.

تكون الجزيئات الفاعلة جزيئات صغيرة الوزن الجزيئي كالأحماض الأمينية ونواتج استقلاب (أو مستقلبات) Metabolites أخرى، وتقسم إلى قسمين اثنين: جزيئات فاعلة تساهم في تحريض التعبير الجيني تدعى بالمحرّضات Inducers، وجزيئات فاعلة تساهم في كظم التعبير الجيني تدعى تمائم الكاظمات Co-repressors. ترتبط الجزيئات الفاعلة، سواءً كانت محرّضات أم تمائم الكاظمات، ببروتينات الجين المنظّمة، المفعّلات أو الكاظمات، مؤديةً إلى تغيرات مهمة في البنى ثلاثية الأبعاد 3D Structures لهذه البروتينات مما ينعكس حتماً على قدرتها على الارتباط إلى المواقع النوعيّة لها على شريط الدنا قرب محضضات الجينات التي تتحكّم هذه المفعلات والكاظمات بالتعبير عنها. وسنرى فيما يلي أربعة آليات ممكنة لتنظيم التعبير الجيني بوجود أو غياب العوامل المنظّمة السابقة.

- في آلية **التحكّم المحرَّض السلبي** (الشكل 7-3 أعلى يسار)، يرتبط الكاظم بشكله الحر غير المرتبط بالمحرّض إلى موقع RPBS، ويمنع التعبير عن الجين البنيوي في غياب المحرّض. وحين يوجد المحرّض، عندئذ يرتبط الكاظم بالمحرّض، ولا يمكن عندها لمعقد كاظم محرّض الارتباط Repressor-Inducer Complex بموقع RPBS. عندها فقط يمكن لإنزيم بوليميراز الرنا أن يرتبط بمحضّض الجين البنيوي، ويقوم أنتساخ الرنا المرسال الخاص بذلك الجين.
- في آلية **التحكّم المحرَّض الإيجابي** (الشكل 7-3 أعلى يمين)، لا يمكن للمفعّل الارتباط بموقع RPBS ما لم يكن المحرّض متوافراً، ولا يمكن لإنزيم بوليميراز الرنا أن ينتسخ الجين البنيوي ما لم يكن معقّد المفعّل-المحرّض Activator-Inducer Complex مرتبطاً بموقع RPBS. وهكذا، يتم تشغيل انتساخ الجينات البنيوية فقط في حضور المحرّض.
- في **الآلية المنظّمة الكاظمة السلبية** (الشكل 7-3 أسفل يسار)، يحدث انتساخ الجين البنيوي في غياب تميم الكاظم Co-repressor، ولا يحدث في حضوره. فعندما يكون معقد الكاظم – تميم الكاظم Repressor-Corepressor Complex مرتبطاً بموقع RPBS فهوبذلك يمنع بوليميراز الرنا من انتساخ الجين البنيوي. أما في غياب تميم الكاظم، لا يمكن للكاظم الارتباط بموقع RPBS، وبذلك، يستطيع بوليميراز الرنا الارتباط بالمحضّض وينتسخ الجين البنيوي.
- في **الآلية المنظّمة الكاظمة الإيجابية** (الشكل 7-3 أسفل يمين)، يجب أن يرتبط منتج الجين المنظّمة، أو المفعّل Activator، بموقع RPBS حتى يتمكّن بوليميراز الرنا من الارتباط بالمحضّض وانتساخ الجين البنيوي. وعندما يكون تميم الكاظم موجوداً ومتوافراً، يشكّل معقداً مع البروتين المفعّل، وبذلك لا يتمكّن معقّد المفعّل – تميم الكاظم Activator-Corepressor

Complex من الارتباط بموقع RPBS، ومن ثم لا يتمكّن بوليميراز الرنا من الارتباط مع المحضّض.

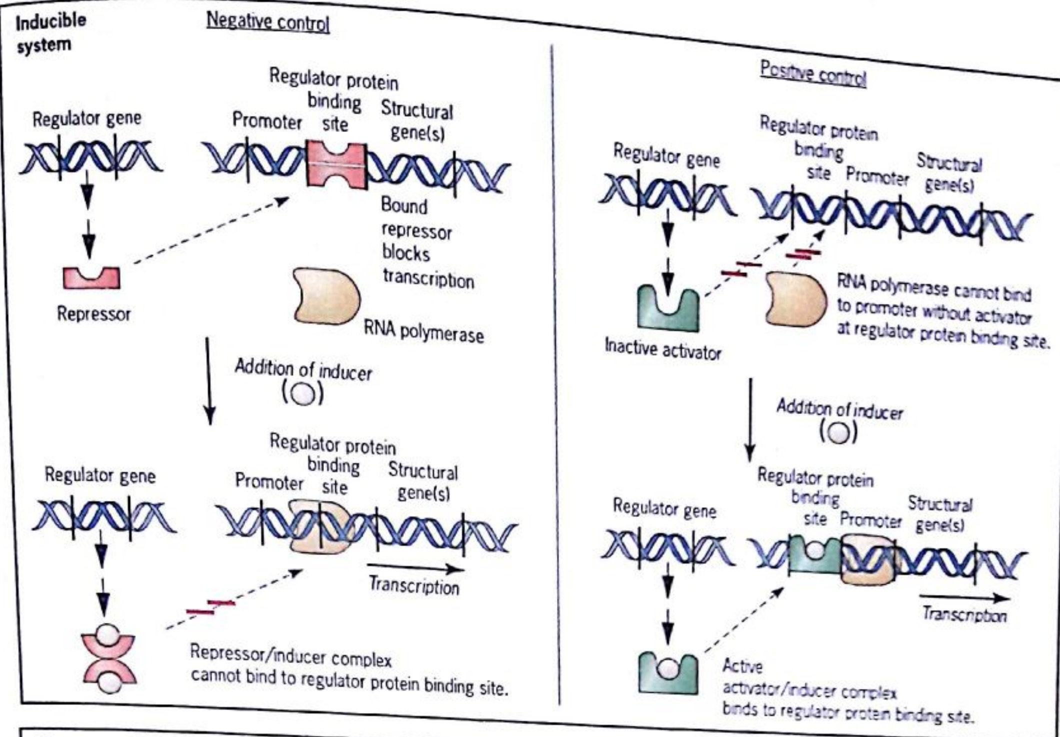
وحتى نُجمل تفاصيل هذه الآليات المنظمة الأربع سنركّز على الاختلافات الجوهرية فيما بينها:

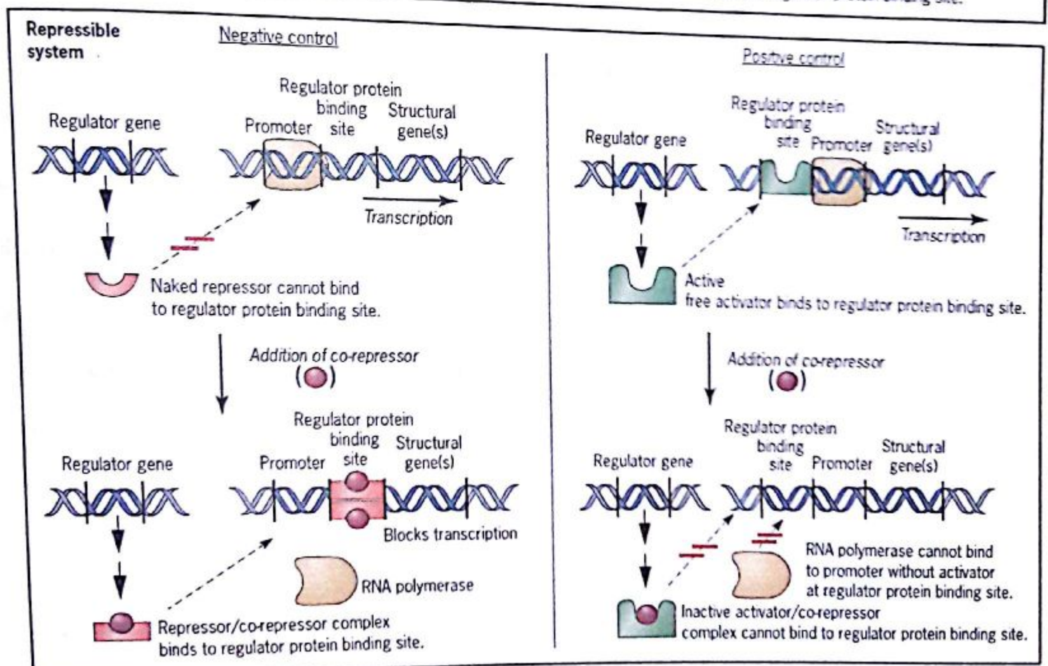
1. يشارك منتج الجين المنظِّمة (المفعِّل Activator)، في تشغيل التعبير الجيني في آلية التحكم الإيجابي، بينما يشارك منتج الجين المنظِّمة (الكاظم Repressor) في إيقاف التعبير الجيني في آلية التحكم السلبي.
2. في كل من آليتي التحكم الإيجابي والسلبي، يعتمد كون التعبير الجيني محرَّضاً أو مُكظماً على ارتباط البروتين المنظِّم، الذي يكون إما بشكله الحر أو بشكله المكوّن لمعقد البروتين المنظّم – الجزيء الفاعل Regulator Protein–Effector Molecule Complex، بموقع RPBS.

وسنذكر فيما يلي بعض الأمثلة عن عمل هذه البروتينات المنظّمة والجزيئات الفاعلة في بدائيات النوى، التي من أهمها على الإطلاق نموذج المشغّلات أو المشغلات Operons الذي اكتشفه العالمان الفرنسيان Francois Jacob و Jacques Monod اللذان حازا جائزة نوبل في الفيزيولوجيا والطب عام 1965 لتمكّنهما من تحديد عناصر التحكم بالتعبير الجيني لاصطناع عدد من إنزيمات الجراثيم، وبحيث عُدَّ اكتشافهما لعناصر التحكّم تلك سبقاً علمياً مهماً مهّد السبيل للكثير من الاكتشافات المثيرة لآليات التحكم بالتعبير الجيني في بدائيات النوى.

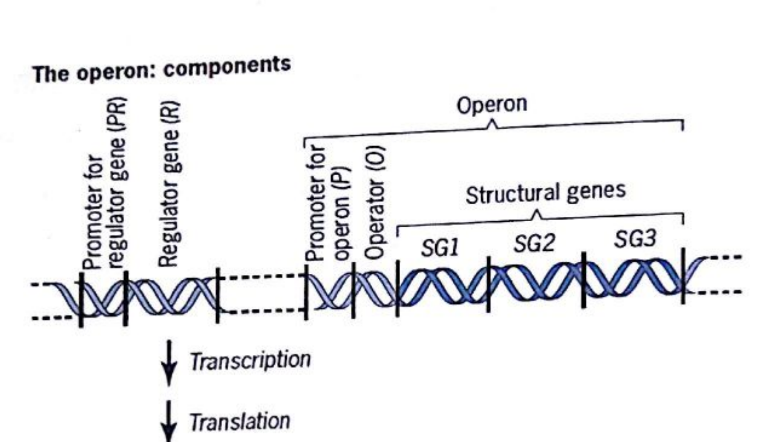
3.2.7. المشغّلات أو المشغّلات Operons: نموذج عن آليات التحكم السلبية

كشف العالمان جاكوب ومونو أن التعبير الجيني لمجموعة من الجينات المتجاورة يتم التحكم به بعنصرين اثنين (الشكل 7–4). أول هذين العنصرين هو جين كاظمة، ترمّز بروتيناً كاظماً، يرتبط تحت شروط معينة بالعنصر الثاني وهو موقع التشغيل Operator. يكون موقع التشغيل دائما مجاوراً للجينات البنيوية التي يتم التحكّم بالتعبير عنها. وتحتوي بعض المشغّلات، كما سنرى في مثال مشغّل اللاكتوز Lac Operon على عدة مواقع تشغيل متتالية، لكن وللتبسيط سنتحدث هنا فقط عن موقع واحد.





(الشكل 7-3). الفروقات بين منظومتي التحريض والكظم في حالتي الضبط السلبي والإيجابي. (أعلى يسار) يعمل المحرّض **Inducer** على منع ارتباط الكاظم مع موقعه على الدنا مما يسمح بارتباط بوليميراز الرنا بالمحضّض **Promoter** والشروع بالانتساخ. (أعلى يمين) يؤدي ارتباط المحرّض **Inducer** بالمفعّل **Activator** إلى تحريض ارتباط الأخير بالدنا وتسهيل ارتباط بوليميراز الرنا بالمحضّض والشروع بالانتساخ. (أسفل يسار) يؤدي ارتباط تميم الكاظم **Co-repressor** بالكاظم **Repressor** إلى تثبيط ارتباط بوليميراز الرنا بالمحضّض وتثبيط الانتساخ. (أسفل يمين) يؤدي ارتباط تميم الكاظم إلى منع ارتباط المفعّل **Activator** بالدنا، ومن ثم تثبيط ارتباط بوليميراز الرنا بالمحضّض وتثبيط الانتساخ.



(الشكل 7–4). مكونات جملة المشغّل. من اليسار إلى اليمين الجين المنظم مع محضّضها، محضّض الجينات البنيوية، موقع التشغيل Operator، الجينات البنيوية المتضمَّنَة في المشغّل، إضافةً إلى الكاظم والجزيء الفاعل (محرّض أو تميم كاظم).

يبدأ الانتساخ عند المحضّض الذي يقع صعداً Upstream بالنسبة للجينات البنيوية. ولدى ارتباط الكاظم بموقع التشغيل Operator، فهو يعيق فراغياً بوليميراز الرنا من انتساخ الجينات الواقعة في المشغّل. وتقع مواقع التشغيل عادةً ما بين المحضّضات وجيناتها البنيوية. وهكذا، تحتوي وحدة المشغّل المتكاملة كلاً من الجينات البنيوية وموقع التشغيل والمحضض. يمكن تمييز المشغّلات المحرّضة عن تلك المُكظَمة عبر تحديد ما إذا كان الكاظم الحر أو معقد الكاظم – الجزيء الفاعل مرتبطاً بموقع التشغيل.

- ففي حال المشغّل المحرَّض، يرتبط الكاظم الحر إلى موقع التشغيل ويوقف الانتساخ في غياب المحرّض (الشكل 7–5 يسار).
- ينعكس الحال في المشغّلات المُكظَمة، بحيث لا يتمكّن الكاظم الحر من الارتباط بموقع التشغيل، بل يمكن فقط لمعقّد الكاظم – الجزيء الفاعل (أو تميم الكاظم) أن يرتبط بموقع التشغيل (الشكل 7–5 يمين). وما عدا ذلك تكون المشغّلات المحرّضة والمكظمة متطابقة كلياً.

يحمل جزيء رنا مرسال واحد المعلومات المشفرة لجميع الجينات البنيوية في المشغّل. على سبيل المثال، يحتوي مشغّل التربتوفان عند الـ E. coli على التتالي المشفّر لخمس جينات مختلفة. وبسبب أنها تنتسخ معاً، يتم التعبير عن جميع الجينات البنيوية في المشغّل الواحد بشكل متناسق، وبحيث تبقى تراكيز بروتيناتها متساوية نسبياً داخل الخلية.

1.3.2.7.مشغّل اللاكتوز Lac Operon: نموذج عن المشغّلات المتواسِطة لسبل التقويض Catabolic Pathways

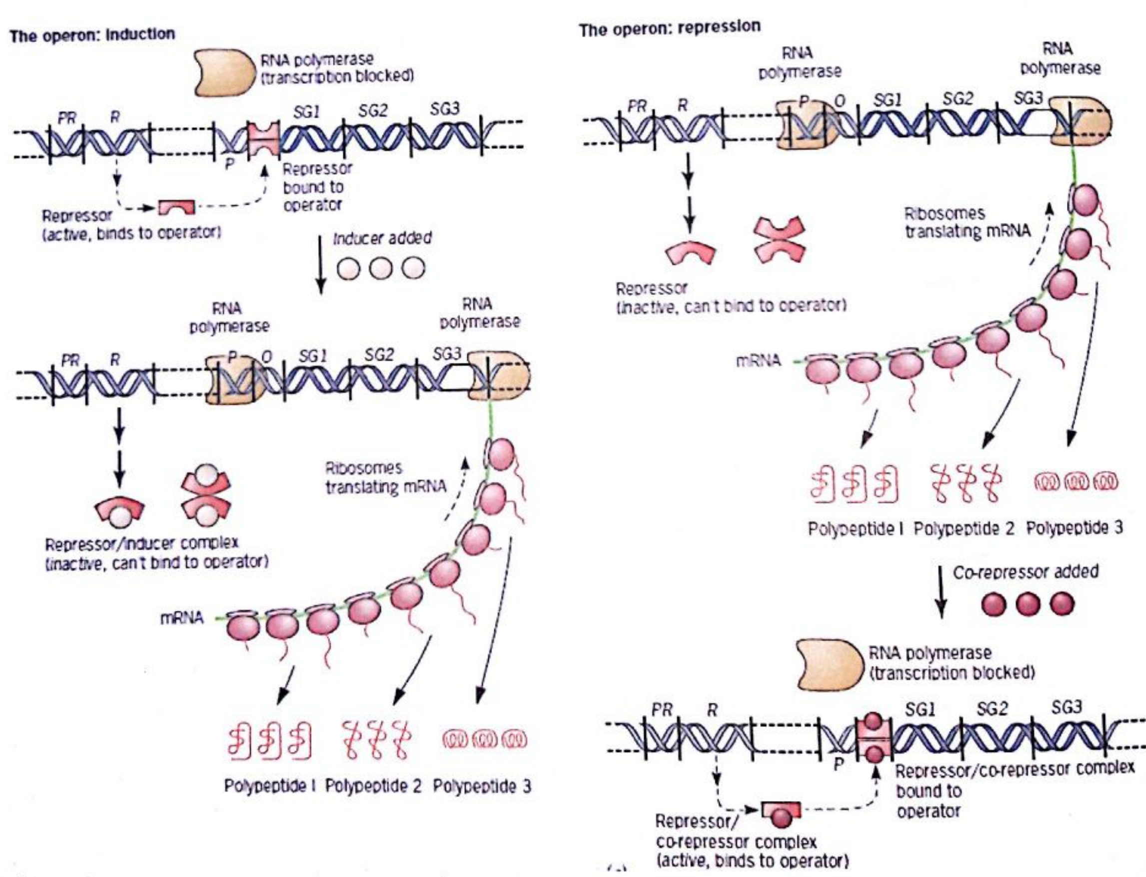
يُعدّ مشغّل اللاكتوز من أكثر الأمثلة وضوحاً عن التحكّم في التعبير عن ثلاث جينات بنيوية تسهم نواتجها في استقلاب سكر اللاكتوز، وهي أنزيمات الـ (z) β–Galactosidase و(y) Permease و(a) Transacetylase. يقوم إنزيم البيرمياز كما أشرنا سابقاً بضخ اللاكتوز إلى داخل الخلية الجرثومية بينما يقوم إنزيم البيتاغالاكتوزيداز بدورين اثنين (الشكل 7–6)؛ من جهة يشطر اللاكتوز إلى سكريه الوحيدين الأساسيين، الغلوكوز والغالاكتوز، ومن جهة أخرى يحول جزءاً من اللاكتوز إلى مركّب الألولاكتوز، الذي يقوم بدور المحرّض Inducer في مشغّل اللاكتوز.

يتم التحكّم بمشغّل اللاكتوز عن طريق موقع تشغيل (O) يقوم بتثبيط اصطناع الأنزيمات الثلاثة بغياب اللاكتوز، وعبر التعبير عن جين (Lac I) التي ترمِّز لكاظمة بروتينية ترتبط بموقع التشغيل لتمنع توضع إنزيم بوليميراز الرنا الناسخ لجينات المشغّل على المحضّض الملاصق لموقع التشغيل. أمّا بوجود اللاكتوز، ومن ثم وجود كمية من الألولاكتوز كمحرّض Inducer، وبروز الحاجة للتعبير عن الإنزيمات اللازمة لاستقلاب اللاكتوز؛ يرتبط الألولاكتوز بالكاظم، ويسبب تغيّراً في هيئته Conformation وبنيته الثالثية بحيث لا يتمكن من الارتباط بموقع التشغيل، ومن ثم ينتفي تأثيره الكاظم لانتساخ جينات استقلاب اللاكتوز (الشكل 7–7).

تجدر الإشارة إلى أنه يوجد دائماً تعبير طفيف جداً لكل من الجينات الثلاث حتى بغياب اللاكتوز، الأمر الذي يفسر وجود كمية ولوقليلة جداً من إنزيم البيرمياز الذي يضخ اللاكتوز فور توفره إلى داخل الخلية، وإنزيم البيتا غالاكتوزيداز، الذي يحول اللاكتوز إلى الألولاكتوز الذي يشرع في الارتباط بالكاظم Lac I وتشغيل مشغّل اللاكتوز.

وأخيراً، لا بدّ من التذكير أن الجراثيم تفضّل سكر الغلوكوز عن سكر اللاكتوز، أي إنه حتى يتم تفعيل مشغّل اللاكتوز لا بد أن يجري ذلك بغياب سكر الغلوكوز. فكيف تدرك الخلية غياب الغلوكوز؟ جاء الجواب عن ذلك بالكشف عن آلية ممتعة تعتمد على وجود تتالٍ نوكليوتيدي متوضع صعداً Upstream ومجاور لتتالي المحضض الخاص بمشغّل اللاكتوز. يمثّل هذا التتالي موقعاً لارتباط أحد عوامل الانتساخ Transcription Factors، يدعى Catabolite Activated Protein أو CAP، الضرورية لانتساخ الجينات البنيوية في المشغّل. يتحول هذا العامل من شكله غير الفعال إلى الشكل الفعال المرتبط بالدنا بعد ارتباطه بالـ cAMP، وبحيث تطرأ على بروتين CAP تغيرات في هيئته تمكّنه من الارتباط بموقعه على شريط الدنا والقيام بعمله في تثبيت إنزيم بوليميراز الرنا والشروع أنتساخ الجينات البنيوية في مشغّل اللاكتوز. من جهة أخرى، ترتبط

تراكيز الـ cAMP بشكل مباشر بمستوى الغلوكوز في الوسط التي توجد فيه خلايا الـ E. coli، بحيث تنخفض مستويات الـ cAMP بشدة لدى وجود الغلوكوز وترتفع بغيابه. في الواقع، إن غياب الغلوكوز يقلل من كمية الطاقة التي تنتج في الخلية الجرثومية، ويؤدي إلى حلمهة معظم جزيئات الـ ATP إلى ADP، ومن ثم AMP الذي يتحوّل أخيراً إلى cAMP بواسطة إنزيم Adenylate Cyclase (الشكل 7-8). ولدى غياب الغلوكوز ترتفع مستويات الـ cAMP كثيراً مما يؤدي إلى تفعيل عامل الانتساخ وتسهيل ارتباط بوليميراز الرنا وانتساخ الجينات البنيوية في المشغّل. وهكذا، فإن تشغيل مشغّل اللاكتوز لا يحدث إلا في حال وجود اللاكتوز وغياب الغلوكوز، بينما يتوقف المشغّل في الحالات الثلاث التالية؛ حال وجود اللاكتوز والغلوكوز معاً، حال وجود الغلوكوز وغياب اللاكتوز، حال غياب كل من الغلوكوز واللاكتوز (الشكل 7-9). وقد بينت نتائج الدراسات أن مستوى انتساخ الجينات البنيوية لمشغّل اللاكتوز في غياب cAMP يبلغ 2% فقط من مستوياتها لدى غياب الغلوكوز ووجود cAMP.

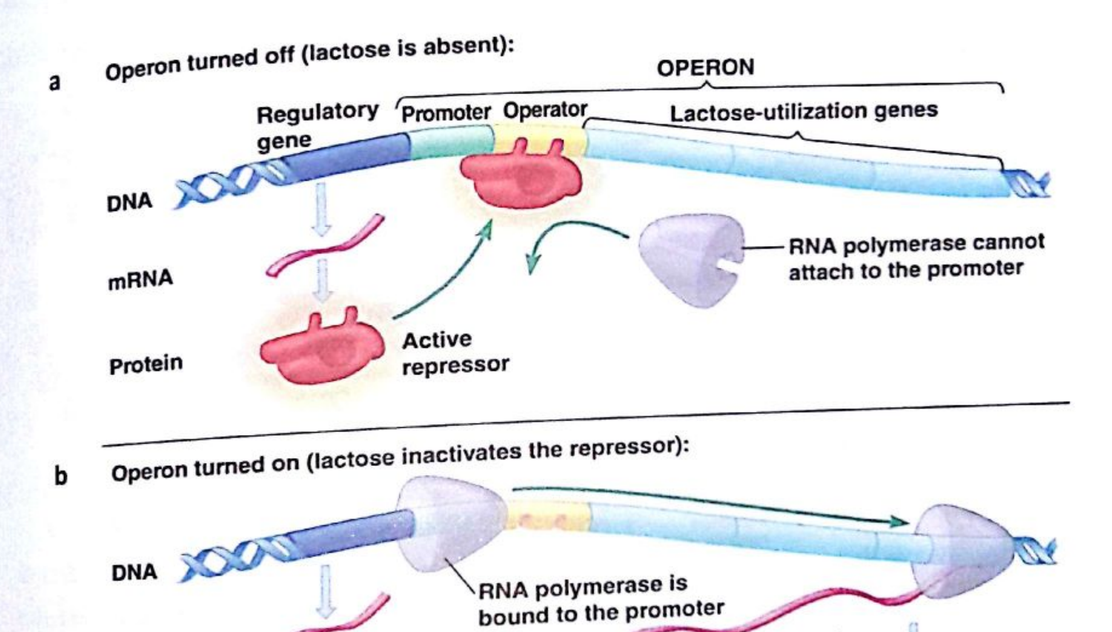


(الشكل 7-5). تحريض أو تثبيط جملة المشغّل. (يسار) تحريض المشغّل: في غياب المحرّض يرتبط الكاظم بموقع التشغيل Operator، ويمنع ارتباط بوليميراز الرنا بمحضّض الجينات البنيوية ويثبط انتساخها، ولدى إضافة المحرّض يرتبط بالكاظم مما يمنع معقّد المحرض-الكاظم من الارتباط بموقع التشغيل ويسمح لبوليميراز الرنا بالارتباط بمحضض الجينات البنيوية

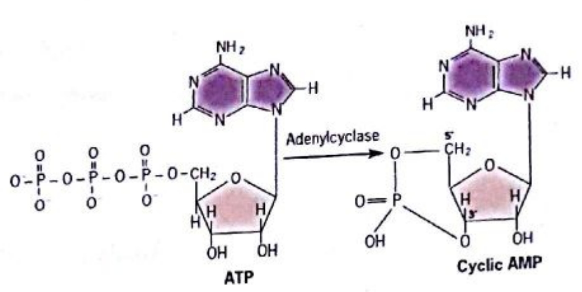
ويشرع أنتساخها. (يمين) تثبيط المشغّل: في غياب تميم الكاظم لا يرتبط الكاظم بموقع التشغيل ويسمح لبوليميراز الرنا بالارتباط بمحضض الجينات البنيوية ويشرع أنتساخها، وبوجود تميم الكاظم يرتبط معقد الكاظم-تميم الكاظم بموقع التشغيل مما يمنع ارتباط بوليميراز الرنا بمحضّض الجينات البنيوية ويثبط انتساخها.

(1) Formation of *lac* inducer
Lactose + H_2O β-galactosidase
Allolactose
(2) Catabolism of lactose
Glucose + Galactose

(الشكل 7–6). فعالية إنزيم البيتا غالاكتوزيداز الشاطرة للاكتوز وأيضاً المشكّلة لجزيء الأللولاكتوز



(الشكل 7–7). مشغّل اللاكتوز. (a) بغياب اللاكتوز، يتمكّن الكاظم من الارتباط بموقع التشغيل ويمنع ارتباط بوليميراز الرنا بمحضّض جينات الإنزيمات الثلاث الضرورية لاستقلاب اللاكتوز في المشغّل. (b) بوجود اللاكتوز، يرتبط مشتقه (الأللولاكتوز) مع الكاظم ويمنعه من الارتباط بموقع التشغيل ومن ثم يفسح المجال لأنزيم بوليميراز الرنا للارتباط بالمحضّض الملاصق لموقع التشغيل وإتمام انتساخ الإنزيمات الثلاثة.



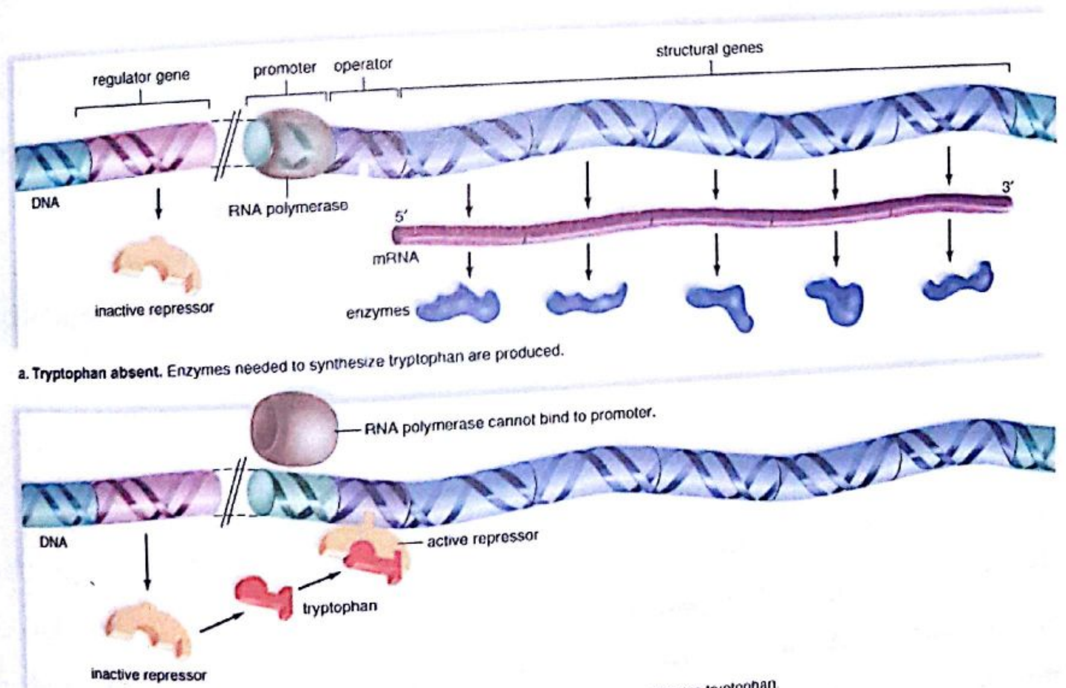
(الشكل 7–8). اصطناع الـ AMP المحلقن من جزيء ATP بتواسط إنزيم الأدينيلات سيكلاز.

(الشكل 7–9). تنظيم انتساخ مشغّل اللاكتوز بوجود أو غياب اللاكتوز والغلوكوز. (a) مكونات قطعة الدنا السابقة صُعُداً Upstream للجينات البنيوية لمشغّل اللاكتوز توضّح موقع التتاليات المسؤولة عن ارتباط بروتين CAP وموقعي المحضّض وموقع التشغيل. (b) بوجود كل من الغلوكوز واللاكتوز لا يتفعل الانتساخ بسبب عدم ارتباط CAP بموقعه وضعف أو غياب ارتباط بوليميراز الرنا. (c) بوجود الغلوكوز وغياب اللاكتوز لا يتفعل الانتساخ بسبب عدم ارتباط CAP بموقعه وأيضاً ارتباط الكاظم بموقع التشغيل Operator. (d) بغياب كل من الغلوكوز واللاكتوز لا يتفعّل الانتساخ بسبب

ارتباط الكاظم بموقع التشغيل على الرغم من ارتباط CAP بموقعه. (e) فقط بغياب الغلوكوز ووجود اللاكتوز يتحقق الانتساخ بسبب ارتباط CAP بموقعه وعدم ارتباط الكاظم بموقع التشغيل، مما يسمح لبوليميراز الرنا بالارتباط بالمحضض والشروع بالانتساخ.

2.3.2.7. مشغّل التريبتوفان Trp Operon: نموذج عن المشغّلات المتواسطة لسبل البناء Anabolic Pathways

يضم مشغّل التريبتوفان في الـ E. coli خمس جينات بنيوية (trp–A) إلى (trp–E) ترمّز بروتينات تسهم في اصطناع الحمض الأميني التربتوفان، ويَتَحكّم في التعبير عنها مُشغِّل ملاصق للمعزاز كما هي الحال في مشغّل اللاكتوز. إلاّ أن الاختلاف الجوهري بين هذين المشغّليْن يكمن في أنّ ارتباط الكاظم بموقع التشغيل في حال مشغّل التربتوفان يحصل بوجود التربتوفان، الذي يمثّل هنا تميماً كاظماً Co-repressor، ويرتبط بالكاظم مغيراً هيئته بحيث تناسب الارتباط بموقع التشغيل (الشكل 7–10). وهكذا، وعلى النقيض من مشغّل اللاكتوز، فإن وجود التربتوفان يثبِّط انتساخ الجينات التي تسهم في اصطناعه، بحيث لا يكون عمل الجينات البنيوية ضرورياً بوجود التريبتوفان كمصدر غذائي للخلية، بينما يستلزم وجود اللاكتوز اصطناع الأنزيمات اللازمة لاستقلابه في حالة مشغّل اللاكتوز. ويمكن النظر إلى الآلية السابقة لعمل مشغّل التربتوفان بوصفه قاطعاً Switch يعمل وفق منظومة مثنوية Binary System تستجيب لوجود التربتوفان (الحالة 1) أو غيابه (الحالة 0).



a. **Tryptophan absent.** Enzymes needed to synthesize tryptophan are produced.

b. **Tryptophan present.** Presence of tryptophan prevents production of enzymes used to synthesize tryptophan.

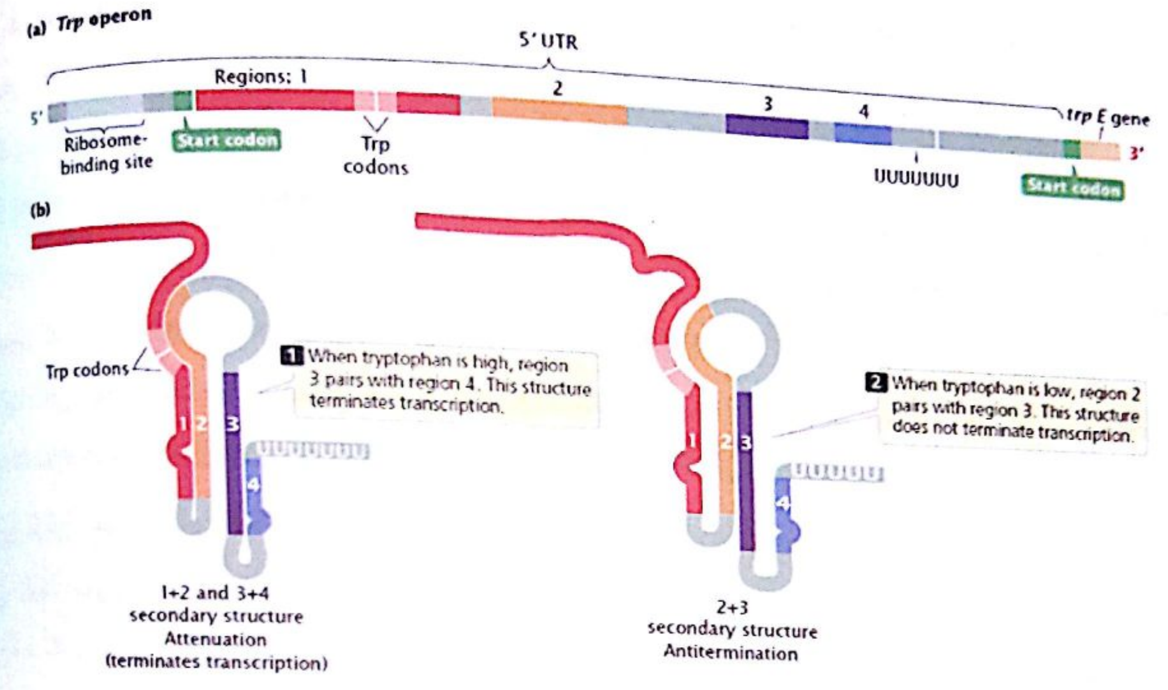
(الشكل 7-10). مشغّل التربتوفان. (a) في غياب التربتوفان لا يرتبط الكاظم بموقع التشغيل ويتم انتساخ الجينات الخمس الضرورية لاصطناع التربتوفان. (b) يرتبط الكاظم بوجود التربتوفان (تميم الكاظم) بموقع التشغيل ويثبط انتساخ الجينات الخمس.

إضافةً لذلك، فإنّ للتربتوفان آلية تحكّم أخرى في انتساخ الجينات الخمس تسمّى بالتوهين Attenuation، تتم على مستوى الرنا المرسال وخاصّةً على الجزء `5 غير المترجم من الرنا المرسال 5`UTR وترتبط كمّياً بتراكيز التربتوفان في الخلية وليس فقط بوجوده أو غيابه. ولهذه الآلية عناصر أخرى إضافةً إلى ما ذكر آنفاً تتعلق بالمنطقة السابقة لموقع بدء الانتساخ والمؤلَّفة من أربع مناطق قيادية Leader Regions تبعد 162 نوكليوتيداً نزلاً Downstream عن موقع بدء الانتساخ، وتحتوي المنطقة 1 على رامِزيْن للتربتوفان (الشكل 7-11). وهنا لا بد من التذكير أن كلاً من عمليتي انتساخ الرنا المرسال وترجمته تتمّان في آن واحد في بدائيات النوى، بحيث تبدأ الريباسات بترجمة النهاية `5 للرنا المرسال بصورة متزامنة مع انتساخه (أنظر الفصل السادس). وهكذا، تؤدي زيادة اصطناع التربتوفان إلى توهين راجع لمشغّل التربتوفان ومنع اصطناع المزيد من هذا الحمض الأميني. وتُعدّ الآليّة السابقة مثالاً على توهين الانتساخ المتواسط بالترجمة Translation-Mediated Transcription Attenuation، حيث يؤثّر معدّل الترجمة على بنية الرنا التي تؤثر على معدّل الانتساخ. يسير الريبوزوم ببطء خلف أنزيم بوليميراز الرنا، ويمكن للمتواليات القيادية في الرنا المرسال أن تتخذ هيئتين حسب تراكيز التربتوفان. فعند وجود تراكيز مرتفعة من التربتوفان وإثر ارتباط الرنا الناقل الذي يحمله برامِزي التربتوفان في الموقع 1، ترتبط المنطقتان 3 و4 بعضهما ببعض بحيث يسقط أنزيم البوليميراز عند نهاية هذه البنية ويتوقف الانتساخ. أما بوجود تراكيز منخفضة من التربتوفان، فيتوقف الريبوزوم عند المنطقة 1 الحاوية على رامِزين للتربتوفان بسبب عدم توافر الحمض الأميني مما يسهم في ارتباط المنطقتين 2 و3 بعضهما ببعض، وعندها يستمر انتساخ الرنا متبوعاً بترجمته دون توقف إلى حين عودة ارتفاع تراكيز التربتوفان مرة أخرى (الشكل 7-11). والمثير للاهتمام هنا أن توافر التربتوفان يزيد من سرعة الترجمة مما ينعكس سلباً على الانتساخ، بينما تبطئ التراكيز المنخفضة من التربتوفان من سرعة الترجمة مما يحفّز انتساخ الجينات المصطنعة للتربتوفان.

4.2.7. تنظيم التعبير الجيني على مستوى الترجمة Translational Control of Gene Expression

على الرغم أن تنظيم التعبير الجيني في بدائيات النوى يتم على مستوى الانتساخ، يحدث التحكّم النهائي على مستوى الترجمة. وفي بدائيات النوى، غالباً ما تكون جزيئات الرنا المرسال متعددة الجينات، حاملةً التتاليات

المرمّزة للعديد من الجينات، كما رأينا سابقاً في مشغّل اللاكتوز. مع ذلك، لا يتم اصطناع الإنزيمات الثلاثة لمشغّل اللاكتوز بشكل متساوٍ تماماً، فالـ E. coli التي تنموفي وسط يحتوي على اللاكتوز كمصدر كربوني وحيد تحتوي على 3000 جزيء من إنزيم الغالاكتوزيداز و1500 جزيء من إنزيم البيرمياز و600 جزيء فقط من الغالاكتوزيداز ترانس أسيلاز. ومن المنطقي أن يعود السبب في هذه الفروق في تراكيز الإنزيمات الثلاثة إلى تنظيم لاحق للانتساخ Post–Transcriptional Regulation، وليس بالانتساخ بحدّ ذاته.



(الشكل 7–11). توهين الانتساخ بالتربتوفان. (a) مشغّل التربتوفان في جزيء الدنا، وتبدوالمناطق القيادية الأربع ورامزي التربتوفان في المنطقة الأولى. (b) يكون الرنا المرسال على هيئتين اثنتين؛ ترتبط في الأولى (يسار) المنطقتان 3 و4 بحيث يتوقف الانتساخ بوجود تراكيز عالية من التربتوفان، بينما ترتبط في الثانية (يمين) المنطقتان 2 و3 بحيث يستمر الانتساخ بوجود تراكيز قليلة من التربتوفان.

ويمكن أن تفسر آلياتٌ ثلاث التنظيم اللاحق للانتساخ:

1. يمكن أن تتباين فعاليات الترجمة عند رامِز البدء ATG لجينات مختلفة.
2. تشيع الاختلافات في فعالية حركة الريباسات على الرنا المرسال في المناطق ما بين الجينات Intergenic. وهكذا، يمكن أن تنتج معدلات منخفضة للترجمة من ملاقط الشعر أو غيرها من أشكال البنى الثانوية في جزيء الرنا المرسال، التي تعيق هجرة الريباسات على طول جزيء الرنا.
3. يمكن أن تحصل معدلات مختلفة لتحطّم مناطق معيّنة من جزيئات الرنا المرسال.

5.2.7. آليات التنظيم ما بعد الترجمة Post-translational Regulatory Mechanisms

غالباً ما يحصل تحكم دقيق وسريع على مستوى الفعالية الإنزيمية. يؤدي وجود مقادير كافية من المنتج النهائي لأحد سبل الاصطناع الحيوي إلى تثبيط الإنزيم الأول الذي يحفّز أحد تفاعلات السبيل نفسه. تدعى هذه الظاهرة بالتثبيط عبر التلقيم الراجع Feedback Inhibition أو التثبيط عبر المنتج النهائي End-Product Inhibition (الشكل 7-12).

يؤدي التثبيط عبر التلقيم الراجع إلى إيقاف اصطناع المنتج النهائي بحيث يكاد يكون لحظياً بعد إضافة المثبطات إلى الوسط. ونعود هنا إلى مثال اصطناع التربتوفان في الـ E. coli. يرتبط التربتوفان بالإنزيم الأول في سبيل الاصطناع وهوالإنزيم المصنّع للأنثرانيلات Anthranilate Synthase ويكبت فعاليته بشكل كامل ويوقف اصطناع التربتوفان بشكل فوري.

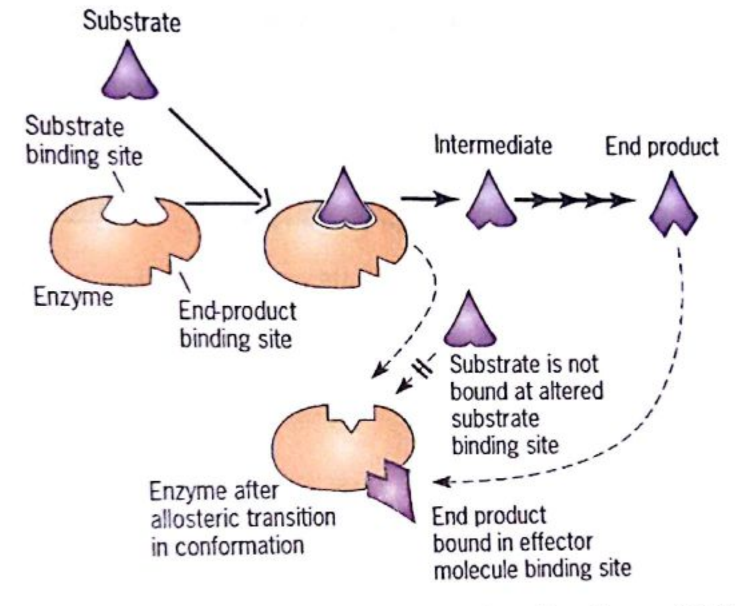
تحتوي الإنزيمات الحساسة للتثبيط عبر التلقيم الراجع موقعاً لارتباط المنتج النهائي يدعى بالموقع التفارغي Allosteric Site، إضافةً إلى موقع الارتباط بركائزها Substrates النوعية. ولدى ارتباط الإنزيم بالمنتج النهائي، تحدث تغيرات في البنية ثلاثية الأبعاد وهيئة الإنزيم مما يخفض إلفة الإنزيم للارتباط بركيزته. ويشار إلى الإنزيمات التي تخضع لمثل هذا التغير في الهيئة Conformational Change بالبروتينات التفارغية Allosteric Proteins، ويخضع الكثير من، وربما معظم، الإنزيمات لمثل هذه التغيرات.

يمكن أيضاً أن تكون التغيرات التفارغية مسؤولة عن تنشيط الإنزيمات بعد ارتباط بعض الجزيئات في الموقع التفارغي. وتُبدي بعض الإنزيمات طيفاً واسعاً للجزيئات التي يمكن أن ترتبط بها وتعمل على تنشيطها أو تثبيطها نتيجة إحداث التغيير في هيئة هذه الإنزيمات. نذكر على سبيل المثال الإنزيم المصنّع للغلوتامين Glutamine Synthase، الذي يحفّز الخطوة الأخيرة في الاصطناع الحيوي للحمض الأميني الغلوتامين. يتكون هذا الإنزيم من عدد من السلاسل عديدة الببتيد في بدائيات النوى، ويبدي استجابةً، سواءً أدّت إلى تنشيطه أم إلى تثبيطه، لـ 16 مستقلباً مختلف عبر التغيرات التفارغية.

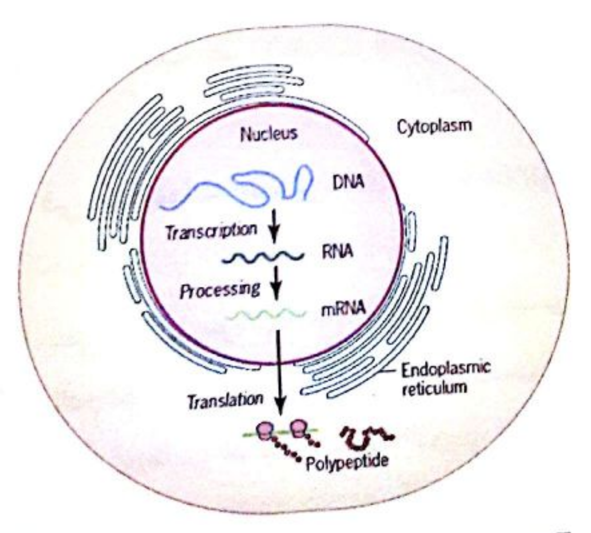
3.7. تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النوى Regulation of Gene Expression in Eukaryotes

تحتوي الكائنات عديدات الخلايا على الكثير من الأنماط الخلوية المرتبة ضمن أنسجة وأعضاء. يمكن أن يتم التعبير لجين معينة في خلايا الدم لكن لا يعبّر عنها في الخلايا العصبية، بينما قد يكون مرتسم Profile التعبير الجيني لجين أخرى معكوساً. ويعكس ضبط التعبير الجيني المؤدي لمثل هذه الاختلافات التعقيد التشريحي والفيزيولوجي لحقيقيات النوى عديدات الخلايا.

وكما لدى بدائيات النوى، يتضمن التعبير عن جينات حقيقيات النوى انتساخ تلك الجينات واصطناع الرنا المرسال والترجمة اللاحقة له إلى بروتين. لكن، قبل حصول الترجمة، تخضع معظم جزيئات الرنا إلى عدة عمليات تمت الإشارة لها سابقاً (انظر الفصل الخامس). إن تقسيم خلايا حقيقيات النوى إلى حجرات عديدة (العضيات الخلوية) يفصل فيزيائياً أحداث التعبير الجيني. فيحدث الانتساخ والتعديلات اللاحقة له في النواة بينما تحدث الترجمة في هيولى الخلية بعد وصول الرنا المرسال الناضج إليها قادماً من النواة. يؤدي الفصل بين الانتساخ والترجمة إلى حصول ضبط التعبير الجيني في أماكن مختلفة (الشكل 7-13).



(الشكل 7-12). التثبيط التفارغي Allosteric Inactivation لفعالية الإنزيم بواسطة المنتج النهائي. يحتوي الإنزيم موقعاً تفارغياً في غير موقع ارتباط الإنزيم بركازته Substrate، وعندما يرتبط المنتج النهائي للتفاعل الإنزيمي بالموقع التفارغي يُحدِث تغيراً في هيئة الإنزيم، ولا يتمكّن الإنزيم عندها من الارتباط بركازته ويتوقف التفاعل الذي يتواسطه.



(الشكل 7-13). مواقع تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النوى.

1.3.7. ضبط التعبير الجيني على مستويي الدنا والرنا
Control of Gene Expression On DNA & RNA Levels

1.1.3.7 . الضبط على مستوى انتساخ الدنا Controlled Transcription of DNA

قبل أن تملك الإشارات البيئية أي تأثير على مستوى الانتساخ لا بد لها من العبور من سطح الخلية عبر الهيولى والغلاف النووي إلى الصبغيات. وبذلك، تحتاج الخلايا حقيقيات النوى إلى منظومات إشارة داخلية معقدة لانتساخ الدنا. ويكمن تعقيد آخر في كون الكثير من حقيقيات النوى عديدات خلايا. وهكذا، يمكن للجزيئات البيئية أن تمر عبر طبقات خلوية متعددة حتى تملك تأثيراً على انتساخ الجينات في نسيج محدّد. وكما هوالحال في بدائيات النوى، تتواسط ضبط الانتساخ في حقيقيات النوى تآثرات بين البروتينات وشريط الدنا، بحيث ترتبط بروتينات منظِّمة إيجاباً وسلباً إلى مناطق محدّدة في الدنا لتحريض أو تثبيط الانتساخ. وتدعى هذه البروتينات بعوامل الانتساخ Transcription Factors، والتي سنتحدث عنها بالتفصيل لاحقاً في هذا الفصل.

2.1.3.7 . التضفير البديل للرنا Alternative Splicing of RNA

يملك الكثير من جينات حقيقيات النوى إنترونات Introns، وهي تتاليات غير مرمّزة للبروتين يجب أن تزال من جزيء الرنا المرسال البدئي قبل أن ينضج ويخرج إلى هيولى الخلية بعملية التضفير Splicing (انظر الفصل الخامس). تتسبب الجينات التي تملك عدة إنترونات بمشكلة لآليات التضفير. فيمكن لهذه الإنترونات أن تُزال بشكل فردي أو كمجموعة، اعتماداً على كيفية تآثر آليات التضفير بالرنا المرسال البدئي. فإذا أزيل إنترونان متعاقبان معاً، عندها تتم إزالة الإكسون الواقع بينهما. وهكذا، يمكن لآليات التضفير أن تعدّل التتالي المشفّر للرنا عبر حذف بعض الإكسونات. تدعى هذه الظاهرة الخاصة بتضفير الرنا بأشكال مختلفة بالتضفير البديل Alternative Splicing، ويعتقد أنها تعظّم الاستفادة من تتاليات دنا الجينات بحيث يمكن لجين واحدة أن ترمّز عدداً من البروتينات بدلاً من بروتين واحد. وكمثال على ذلك، نذكر بروتين التروبونين Troponin T المعبَّر عنه في العضلات المخططة في الفقاريات؛ يتراوح حجم هذا البروتين بين 150 و250 حمضاً أمينياً. وفي الجرذ، يبلغ حجم جين التروبونين T 16000 شفعاً من النوكليوتيدات وتحتوي 18 إكسوناً (الشكل 7-14). يتم تضفير نواسخ Transcripts، أي جزيئات الرنا المنتسخة من هذه الجين، بطرق مختلفة لتعطي مصفوفة من جزيئات الرنا المرسال المختلفة، التي تعطي لدى ترجمتها الكثير من أنواع التروبونين T في الجرذ تشترك جميعها بنفس الأحماض الأمينية الناتجة عن ترجمة الإكسونات 1-3 و9-15 والإكسون 18، بينما قد توجد أو تُحذَف المنطقة المرمّزة بأي من الإكسونات 4-8 وبأي شكل كان. كما

يمكن أن يوجد أو يحذف الإكسونان 16 و17. ويُعتقد أن هذه التنويعات لبروتين التروبونين T في الجرذ تقوم بوظائف مختلفة قليلاً في العضلات، مما يساهم في التبدلات في عمل الخلية العضلية.

Exons in rat troponin T gene

5' 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 3'

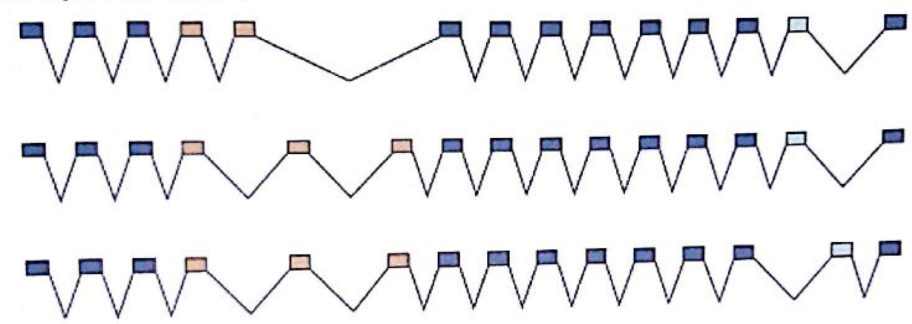
Alternate splicing of exons produces 64 different mRNAs.

Exons 1–3, 9–15, and 18 are present in all mRNAs.

Exons 4–8 are present in various combinations in mRNAs.

Exons 16 or 17, but not both, are present in all mRNAs.

Examples of mRNAs



(الشكل 7–14). التضفير البديل للرنا المرسال لبروتين التروبونين T في الجرذ. يبيّن الشكل ثلاثة أنواع ممكنة للرنا المرسال الناضج الذي ينتج عن انتساخ جين التروبونين، إذ تنتج هذه الأنواع من التضفير البديل عن طريق الإبقاء على بعض الإكسونات وحذف أخرى.

3.1.3.7. الضبط الهيولي لثباتية الرنا المرسال

حالما ينتقل الرنا المرسال إلى الهيولى تتم ترجمته عبر ارتباطه بعدة ريباسات التي ترتبط به وتقوم بترجمته بشكل متعاقب، وتستمر هذه العملية حتى تدرّك الرنا المرسال (انظر الفصل 6). وهكذا، يمثّل تدرّك الرنا المرسال أحد نقاط التحكم بالتعبير الجيني. فيمكن لجزيئات الرنا المرسال طويلة العمر أن تتحمل عدة دورات متعاقبة من اصطناع البروتين بينما لا تتمكّن قصيرة العمر من ذلك. وعندما يكون الرنا المرسال قصير العمر عندئذٍ يجب تعويضه باصطناع جزيئات رنا مرسال جديدة لتخرج مجددا إلى الهيولى لتجنّب توقف اصطناع البروتين الذي يرمّزه. وقد يكون توقف اصطناع البروتين هدفاً في نفسه حين يصبح البروتين ضاراً للخلية أو أن البروتين ضروري فقط في إحدى مراحل النمو فقط. وفي هذين الحالين يكون التدرك السريع للرنا المرسال طريقة معقولة لمنع الاصطناع غير المرغوب به لأحد البروتينات.

يمكن أن يتأثر طول عمر الرنا المرسال بعدد من العوامل من أهمها:

- طول الذيول عديدة الأدنين Poly (A) Tails التي تعمل على زيادة ثباتية الرنا المرسال.
- التتاليات في النهاية 3` غير المترجمة 3`UTR التي تسبق ذيل عديد الأدنين، ويبدو أنها تؤثر أيضاً في ثباتية الرنا المرسال. في الواقع، تملك جزيئات الرنا قصيرة العمر التتالي AUUUA بعدد من التكرارات عند منطقة 3`UTR في هذه الجزيئات. وحين نقل هذا التتالي في بعض التجارب إلى جزيئات رنا مرسال طويلة العمر تصبح هذه الجزيئات قصيرة العمر.
- يمكن لبعض العوامل الكيميائية، كهرمون الإستروجين، أن تؤثر في ثباتية الرنا المرسال.
- وجود جزيئات رنا صغيرة الوزن الجزيئي تدعى جزيئات الرنا المُسكِتَة Silencing RNAs أو جزيئات أخرى تدعى جزيئات الرنا الأصغري MicroRNAs، التي تقوم بتحطيم الرنا المرسال أو بتثبيط ترجمته. وسنتحدث عن هذه الجزيئات لاحقاً في هذا الفصل.

2.3.7. تحريض الفعالية الانتساخية بالعوامل البيئية والبيولوجية Induction of Transcriptional Activity By Environmental & Biological Factors

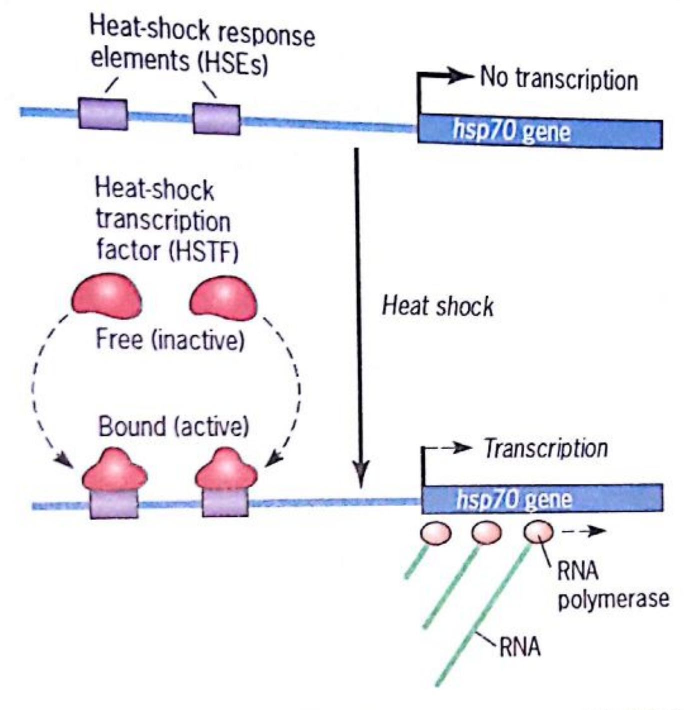
سار جمهرة من الباحثين على خطى العالمين جاكوب ومونو، اللذين كشفا كما رأينا أن اللاكتوز يعمل كمحرّض للتعبير الجيني في مشغّل اللاكتوز، لتحديد المحرضات النوعية للتعبير الجيني في حقيقيات النوى. وعلى الرغم من أن بعض تلك الخطوات تكللت بالنجاح، تبدو درجة تأثر جينات حقيقيات النوى بالعوامل البيئية والتغذوية أقل من تلك التي تبديها بدائيات النوى. وسنقدم فيما يلي مثالين عن التعبير الجيني المحرَّض في حقيقيات النوى.

1.2.3.7 . الحرارة وجينات الصدمة الحرارية

عندما تتعرض الكائنات الحية لدرجة حرارة مرتفعة، تستجيب باصطناع مجموعة من البروتينات تساعد في زيادة ثباتية بيئاتها الداخلية. تدعى هذه البروتينات ببروتينات الصدمة الحرارية Heat-Shock Proteins أو HSPs وتوجد في كل من بدائيات وحقيقيات النوى، وهي من بين البروتينات الأكثر انحفاظاً من إذ التتاليات النوكليوتيدية لجيناتها بين الكائنات الحية. على سبيل المثال، يتراوح التطابق في تسلسل الأحماض الأمينية لهذه البروتينات بين جراثيم E. coli وذبابة الخل Drosophila بين 40 إلى 50%، وهوأمر مثير للاهتمام مع إدراك المسافة التطورية الكبيرة بين كلا النوعين من الكائنات الحية.

يتم ضبط التعبير الجيني عن بروتينات الصدمة الحرارية على مستوى الانتساخ، إذ تحرّض الحرارة بشكل نوعي انتساخ الجينات المرمّزة لهذه البروتينات. أحد الأمثلة هوبروتين الصدمة الحرارية لدى ذبابة الخل له

وزن جزيئي 70 كيلودالتون HSP70. فقط حين ترتفع الحرارة إلى 33°م، كما يحدث في أيام الصيف الحارة، يتم انتساخ جين هذا البروتين. يحدث ذلك بسبب فسفرة أحد عوامل الانتساخ يدعى عامل انتساخ الصدمة الحرارية Heat-Shock Transcription Factor أو HSTF، الذي يوجد في نوى خلايا ذبابة الخل، ويتحول بذلك إلى شكله الفعال القادر على الارتباط بتتالي نوكليوتيدي يدعى عنصر استجابة الصدمة الحرارية Heat-Shock Response Element أو HSE يقع صُعُداً بالنسبة لجين HSP70 مما يجعل إنزيم بوليميراز الرنا أكثر قدرةً على الارتباط بمحضّض هذا الجين ويشرع أنتساخها (الشكل 7-15).



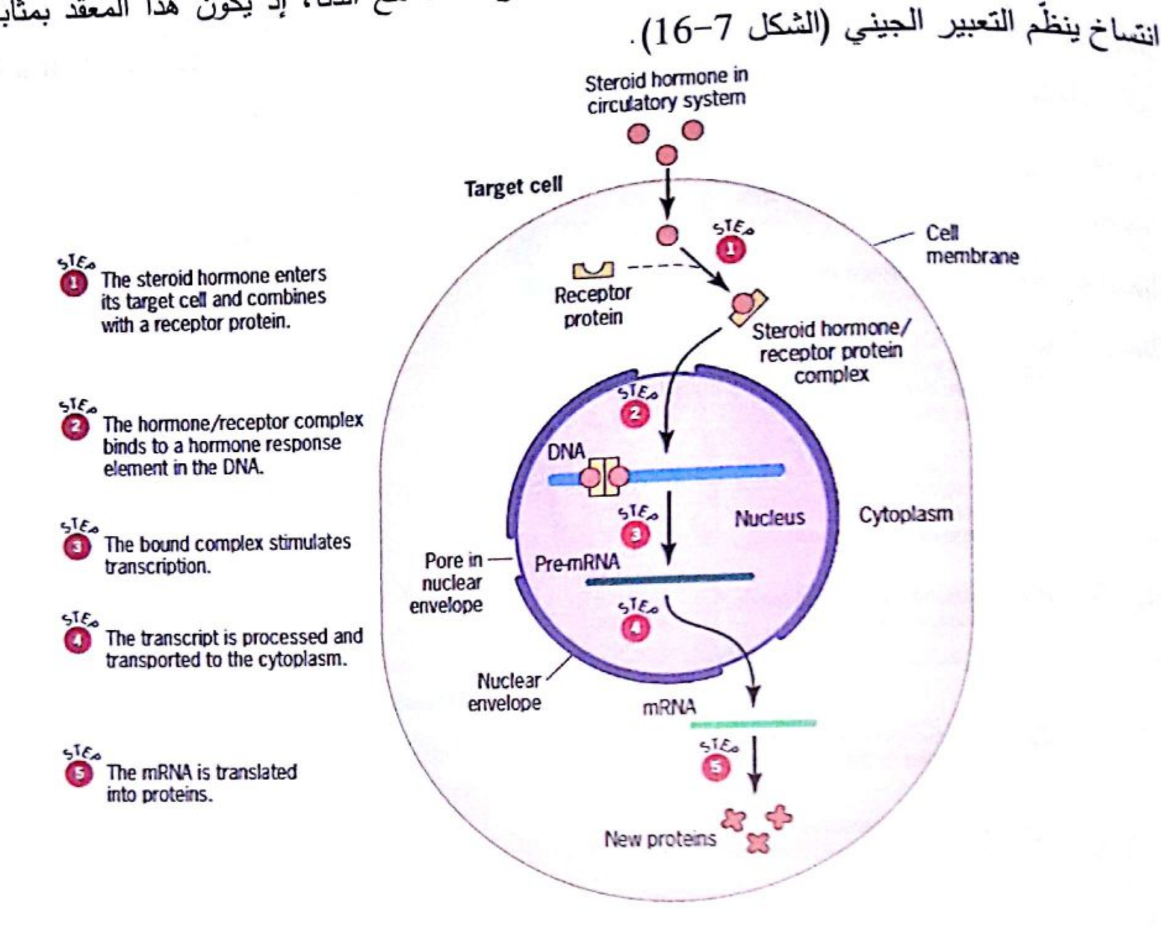
(الشكل 7-15). انتساخ جين HSP70 بوجود عامل الانتساخ HSTF الذي تتغيّر هيئته نتيجة ارتفاع درجة الحرارة إلى شكل يستطيع الارتباط بالدنا ويفعّل انتساخ الرنا المرسال لجين HSP70.

7.3.2.2. جزيئات الإشارة: الجينات المستجيبة للهرمونات

في حقيقيات النوى عديدات الخلايا، يمكن لخلية أن تمرر إشارة لخلية أخرى عبر ما نطلق عليه الهرمونات، وتجول في الجسم وترتبط بخلاياها المستهدفة وتولّد سلسلة من الحوادث التي تنظّم من خلالها التعبير الجيني لجينات نوعية. يوجد لدى الحيوانات عادة صنفان من الهرمونات.

الصنف الأول، وهو الهرمونات الستيروئيدية Steroid Hormones، وهي جزيئات صغيرة منحلة بالدسم ومشتقّة من الكولسترول. وبسبب طبيعتها الدسمة، يمكنها بسهولة أن تمر عبر أغشية الخلية، ومثالها الإستروجين والبروجستيرون والتستسترون والسكريات القشرانية Glucocorticoids. وحالما يدخل الهرمون الستيروئيدي إلى الخلية، تتآثر معه بروتينات هيولية أو نووية تدعى بمستقبل الهرمون Hormone

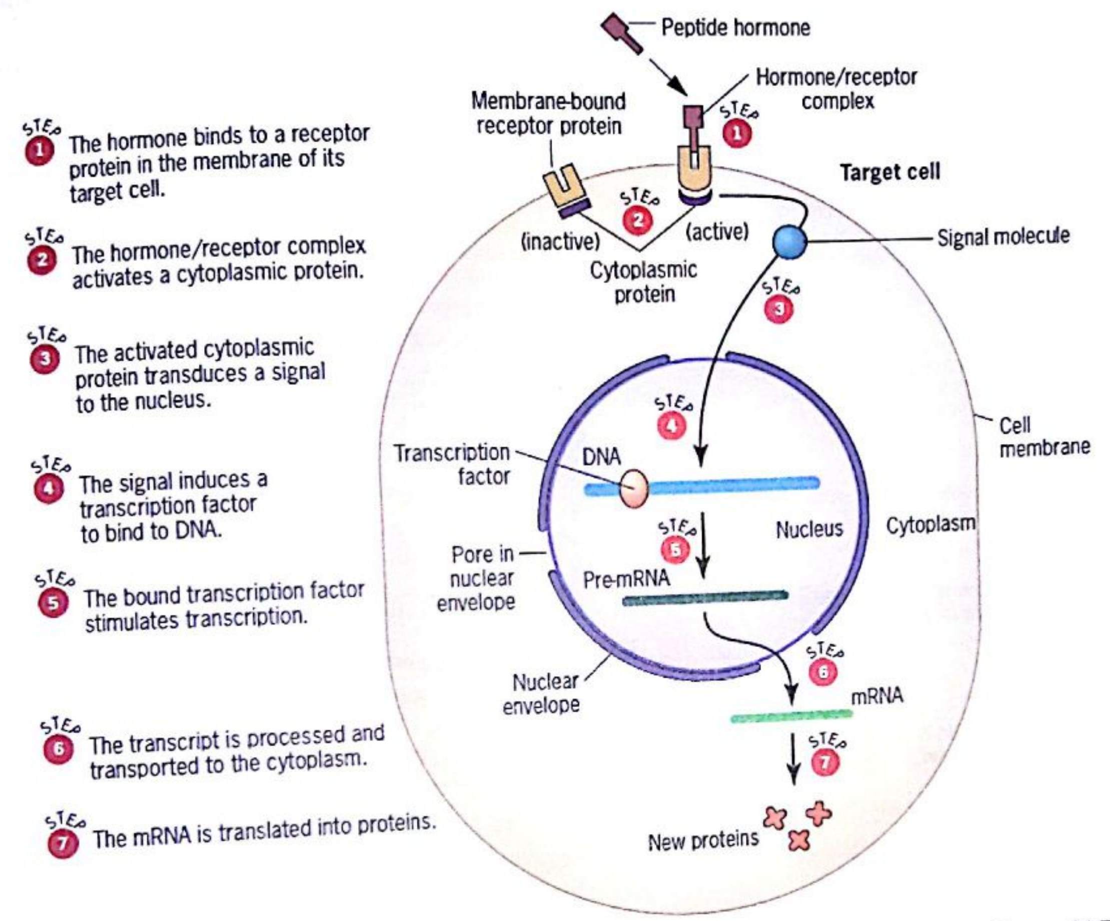
Receptor ليتشكّل معقد من الهرمون ومستقبله ويتآثر لاحقاً مع الدنا، إذ يكون هذا المعقّد بمثابة عامل انتساخ ينظّم التعبير الجيني (الشكل 7-16).



(الشكل 7-16). دور الهرمونات الستيروئيدية في تحريض انتساخ جيناتها الهدف. 1) بعد دخول الهرمون إلى هيولى الخلية يرتبط بمستقبله مشكلاً معقد هرمون-مستقبل 2) يرتبط المعقّد بعنصر استجابة في الدنا 3) يحرض المعقد الانتساخ 4) ينتقل الرنا المرسال المنتسخ إلى الهيولى و5) يُترجم.

أما الصنف الثاني من الهرمونات، وهو الهرمونات الببتيدية Peptide Hormones، فهي سلاسل خطيّة من الأحماض الأمينية ترمّزها جينات خاصة، ومثالها الإنسولين والسوماتوتروبين وعامل النمو والبرولاكتين. وبسبب كون الهرمونات الببتيدية عادةً ذات وزن جزيئي كبير لا يُمكّنها من عبور غشاء الخلايا، تنتقل الإشارة التي تحملها هذه الهرمونات إلى داخل الخلية بعد أن يرتبط الهرمون بمستقبله النوعي على غشاء الخلية (الشكل 7-17). ينتج عن تآثر الهرمون مع مستقبله تغيّر في هيئة المستقبل من الشكل غير الفعّال إلى الشكل الفعّال Active Form، ويترافق ذلك مع تغيرات على هيئة المستقبل في جزئه داخل الخلية. وعبر شلال من تلك التغيرات، تنتقل الإشارة الهرمونية عبر هيولى الخلية إلى النواة، حيث تبدي تأثيراً في

التعبير الجيني لجينات نوعية. وتدعى هذه العملية من نقل إشارة الهرمونات الببتيدية إلى النواة بتنبيغ الإشارة Signal Transduction.



(الشكل 7–17) دور الهرمونات الببتيدية في تحريض انتساخ جيناتها الهدف. 1) يرتبط الهرمون إلى مستقبل غشائي في الخلية الهدف 2) يفعّل معقد هرمون–مستقبل بروتيناً هيولياً 3) ينقل البروتين المحرّض الإشارة إلى النواة 4) تحرّض الإشارة ارتباط عامل انتساخ بالدنا، والذي 5) يحرّض الانتساخ 6) ينقل الرنا المرسال إلى الهيولى و7) يُترجم.

تتواسط التعبير الجيني المحرّض بالهرمونات تتاليات نوعية في شريط الدنا، وتدعى بعناصر الاستجابة الهرمونية Hormone Response Elements أو (HREs)، وهي شبيهة بالعناصر التي ذكرت آنفاً عند الحديث عن الاستجابة الخلوية للحرارة. تقع HREs قرب الجينات التي تنظّم تعبيرها الجيني ووظيفتها أن تربط بروتينات نوعية تعمل على تنظيم الانتساخ. في حال الهرمونات الستيروئيدية كالإستروجين، ترتبط HREs بمعقد الهرمون–مستقبل وتحفّز الانتساخ. وتعتمد شدّة التحفيز تلك على عدد عناصر HREs الموجودة قرب الجين الهدف. أي، لدى وجود عنصرَيْ HREs تكون الاستجابة أعلى من حال وجود عنصر HREs واحد. وفي حال الهرمونات الببتيدية، يبقى المستقبل عادةً عند غشاء الخلية، وتنتقل الإشارة

الهرمونية إلى النواة عبر بروتينات أخرى، بعضها يرتبط بتتاليات دنا قرب الجينات التي يتم تنظيم انتساخها بالهرمون. وتعمل هذه البروتينات بمثابة عوامل انتساخ لتنظيم التعبير الجيني.

يمكن للفعالية الانتساخية لكثير من الجينات أن تتحرّض ببروتينات أخرى غير هرمونية، أي لا يتم إنتاجها من غدّة أو عضو معيّنَيْن. وتضم هذه البروتينات جزيئات جائلة مُفرَزة مثل عامل النمو العصبي Nerve Growth Factor، وعامل النمو البشروي Epidermal Growth Factor، وعامل النمو المشتق الصفائحي Platelet-Derived Growth Factor. وتشبه آلية تفعيل هذه البروتينات غير الهرمونية للتعبير الجيني لجيناتها الهدف داخل الخلية آلية تفعيل الهرمونات الببتيدية إلى حدّ كبير.

3.3.7. الضبط الجزيئي للانتساخ في حقيقيات النوى Molecular Control of Transcription

بما أن انتساخ الجينات هو المستوى الأساسي لتنظيم التعبير الجيني لدى حقيقيات النوى، فقد جذب التعرف على آليات ضبطه عدداً هائلاً من الباحثين الذين استفادوا من التطوّر التقاني في العقود الماضية، وأدى كثير من تلك الأبحاث إلى تحديد العناصر المشاركة في ضبط التعبير الجيني سواءً على مستوى تتاليات الدنا أو البروتينات المشاركة.

1.3.3.7 . البروتينات المتورّطة في ضبط الانتساخ: عوامل الانتساخ

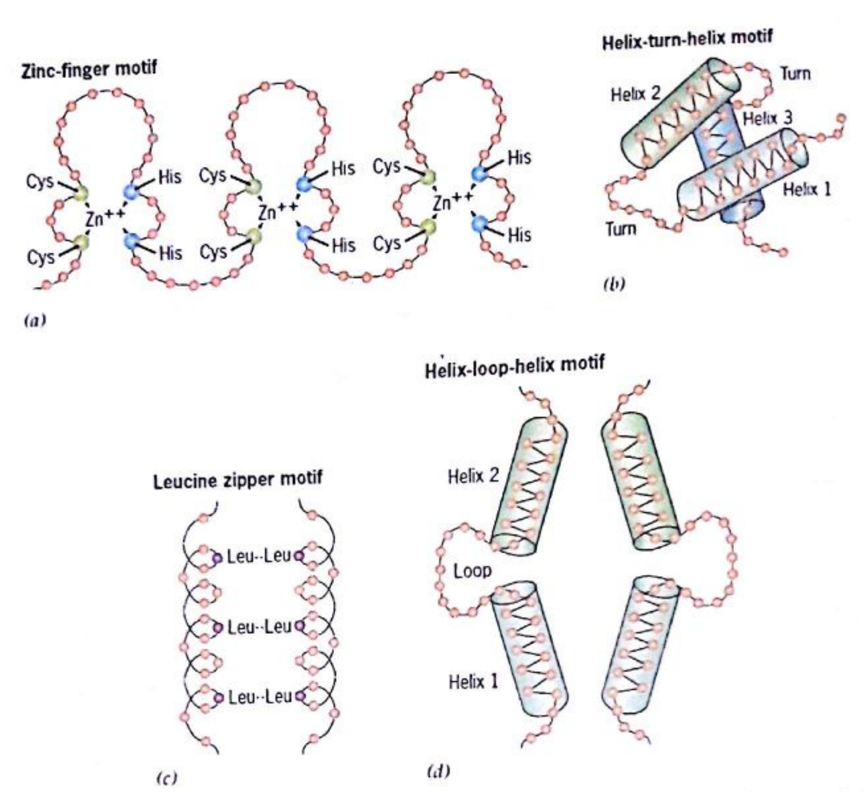
تعرّف عوامل الانتساخ أنها بروتينات تمتلك بنية ثالثية تمكّنها من الارتباط بتسلسلات نوكليوتيدية محدّدة، وخاصّةً في منطقة المحضّض Promoter التي تسبق مباشرة تسلسل الجين على شريط الدنا، وتهيّئ بذلك المكان لارتباط إنزيم بوليميراز الرنا RNA Polymerase المسؤول عن انتساخ تلك الجين. يمكن تمييز عوامل انتساخ عامة تحفّز التعبير الجيني لمعظم الجينات وعوامل انتساخ خاصّة ترتبط بتسلسلات جينات نوعية دون غيرها لتحرّض انتساخها. يتم عادةً تحفيز مجموعة من عوامل الانتساخ الخاصّة بمنبهات مماثلة للشارة الخلوية Cell Signaling، وبحيث تستجيب الخلية لذلك أنتساخ عدد من الجينات النوعية التي تخدم جميعاً الوظيفة الفيزيولوجية المتوائمة مع طبيعة تلك المنبّهات. إن لمستوى ونوع عوامل الانتساخ العامّة والخاصّة داخل الخلية تأثيراً جلياً في التحكّم بالتعبير الجيني لجيناتها، وتكتنف ذلك آليات شديدة التعقيد، ولاسيما أن اصطناع عوامل الانتساخ يحدث خارج النواة، كشأن بقية البروتينات في الخلية، مما يتطلب سبلاً خاصة تسمح بعود إدخال عوامل الانتساخ إلى النواة حيث تؤدّي وظيفتها بتحفيز التعبير الجيني لجيناتها الهدف Target Genes.

يحتوي الكثير من عوامل الانتساخ على الأقل مجالين اثنين Two Domains؛ مجال رابط لشريط الدنا DNA-Binding Domain ومجال مفعّل للانتساخ Transcription Activation Domain. وتحتوي مستقبلات الهرمونات الستيروئيدية على مجال ثالث يرتبط بصورة نوعية مع الستيروئيد. يكتنف تفعيل الانتساخ التآثر الفيزيائي بين البروتينات. ويمكن لعامل الانتساخ المرتبط بالمعزاز Enhancer أن يتآثر فيزيائياً (يرتبط) مع واحد أو أكثر من البروتينات الواقعة على معزازت أخرى أو يتآثر مباشرةً مع البروتينات المرتبطة عند منطقة المحضّض (عوامل الانتساخ العامّة). ومن خلال هذه التآثرات، يمكن لمجال تفعيل الانتساخ لعامل الانتساخ النوعي أن يُحدث تغيّرات في هيئة البروتينات الأخرى، مما يمهّد لإنزيم بوليميراز الرنا للشروع أنتساخ الجين.

ويمكن أن نذكر أربعة بنىً أساسية ثلاثية الأبعاد للمناطق البنيوية لعوامل الانتساخ التي تمكّنها من الارتباط بشريط الدنا، هي (الشكل 7-18):

- بنية إصبع الزنك Zinc Finger Factors: والحاوية على عنصر الزنك المرتبط مع ثمالتي سيستئين وثمالتي هيستيدين، وتشيع هذه البنية الفراغية في الكثير جداً من العوامل الرابطة لشريط الدنا.
- بنية حلزون – التفاف – حلزون Helix-Turn-Helix: التي ترتبط بتتاليات دنا نوعية مسؤولة غالباً عن تفعيل الجينات المتعلقة بتطور الكائن الحي.
- بنية مقص اللوسين Leucine Zipper: وتحتوي البنية الأولية للسلسلة الببتيدية على ثمالة اللوسين في الموقع السابع لكل سبعة أحماض أمينية متتالية. تكون ثمالات اللوسين قريبةً من ثمالات أحماض أمينية ذات شحنة موجبة، مثل الليزين والآرجنين، مما يؤدي إلى ارتباط هذه المواقع المشحونة إيجاباً بالدنا المشحون سلباً.
- بنية حلزون-عروة-حلزون Helix-Loop-Helix: وتجاور هذه البنية عدداً من الأحماض الأمينية المشحونة إيجاباً مما يمكّنها من الارتباط بالدنا المشحون سلباً.

عادةً ما ترتبط عوامل الانتساخ التي لديها بنى مثنوية، مثل مقص اللوسين وحلزون-عروة-حلزون مع سلاسل ببتيدية مطابقة لها لتشكّل مثنويات متجانسة Homodimers، أو يمكنها الارتباط مع سلاسل ببتيدية مختلفة لتشكّل مثنويات غيرية Heterodimers. ويمكن لهذه الأخيرة توضيح أحد الآليات المهمة في تفعيل الانتساخ، إذ يعتمد انتساخ الجين في نسيج معيّن على التفعيل بواسطة مثنوي غيري يتشكّل من ارتباط عوامل الانتساخ ببروتينات لا يتم التعبير عنها إلا ضمن النسيج نفسه.



(الشكل 7–18). أنواع بنى العوامل البروتينية (عوامل الانتساخ) المرتبطة بالدنا. (a) إصبع الزنك (b) حلزون–التفاف–حلزون (c) مقص اللوسين (d) حلزون–عروة–حلزون.

2.3.3.7 . تتاليات الدنا المساهمة في ضبط الانتساخ

تبدأ أحداث الانتساخ بارتباط إنزيم بوليميراز الرنا عند المحضّض Promoter، الأمر الذي يتطلّب عدداً من البروتينات التي تدعى بعوامل الانتساخ العامّة General Transcription Factors أو GTFs التي تقوم بتثبيت تآثر إنزيم البوليميراز مع المحضّض قبل أن يشرع في الانتساخ. إضافةً لذلك، يتطلّب انتساخ جينات حقيقيات النوى الكثير مما يدعى بعوامل الانتساخ النوعية Specific Transcription Factors أو STFs. ترتبط بروتينات الـ STFs بتتاليات من الدنا، هي نفسها عناصر الاستجابة الهرمونية التي ذكرناها سابقاً، سنسمّيها من الآن وصاعداً بالمعززات Enhancers، التي تتوضع كما رأينا بقرب الجينات.

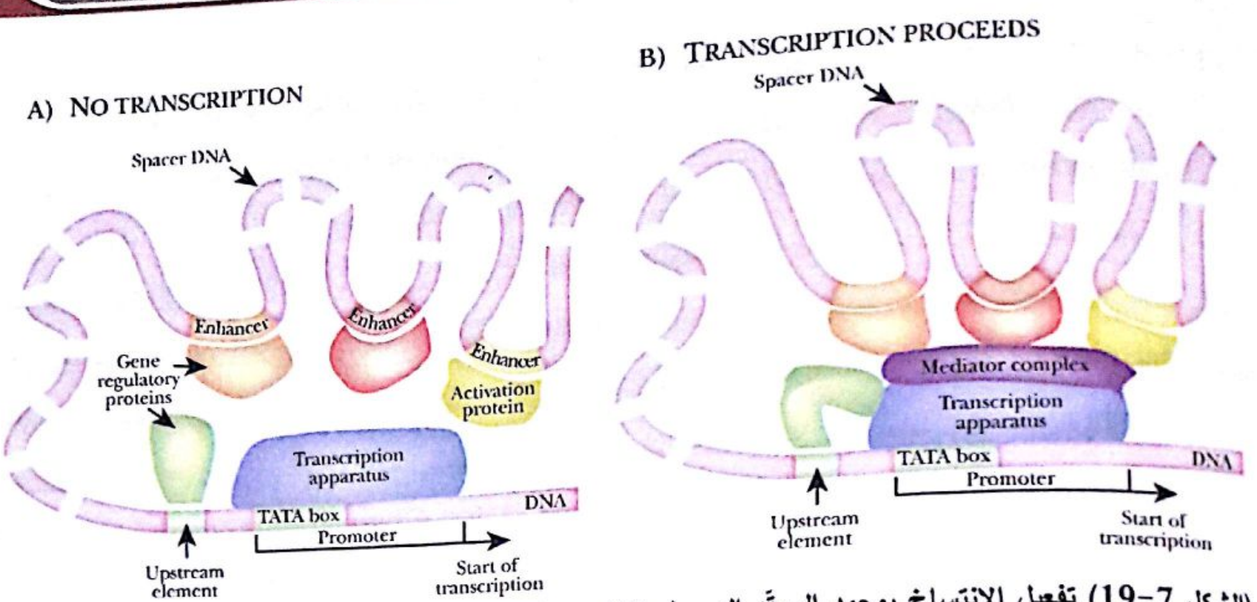
للمعززات خصائص ثلاث تميّزها من المحضّضات Promoters، هي:

1. يمكن لمواقع المعززات أن تبعد آلاف الأشفاع النوكليوتيدية عن الجينات التي تسيطر على انتساخها، بينما يقع المحضّض دائماً في موقع ملاصق للجين التي يُراد انتساخها.

2. يكون تأثير المعزاز الضابط للانتساخ مستقلاً عن اتجاه تتالي المعزاز، أي يمكن أن يقع المعزاز في شريط الدنا الذي ينتسخ عنه جزيء الرنا المرسال، أو ما ندعوه بالطاق المرصاف Template Strand، بحيث يكون اتجاه المعزاز هونفسه اتجاه الجين، أو في شريط الدنا المقابل الذي ندعوه الطاق المشفّر Coding Strand أو الطاق غير المرصاف Non-Template Strand، بحيث يكون اتجاه المعزاز معاكساً لاتجاه الجين، على عكس المحضّض الذي يقع دائماً في نفس الشريط المرصاف وبنفس اتجاه الجين المعبَّر عنها.
3. يُبدي المعزاز تأثيره مستقلاً عن موقعه بالنسبة للجين، فقد يوجد في شريط الدنا صُعُداً Upstream أو نُزُلاً Downstream بالنسبة لموقع الجين، بمعنى مَجازي إلى يسار أو يمين الجين، بينما يقع المحضّض دائماً صُعُداً بالنسبة للجين (إلى يسار الجين).

إضافةً لذلك، يمكن أن يتألف المعزاز من عدد كبير من الأشفاع النوكليوتيدية، قد تبلغ عدة مئات من الأشفاع، وكثيراً ما يحتوي المعزاز على تتاليات متكرّرة Repeated Sequences، وتكون الغالبية من المعزازات نوعية للنسج التي تحرّض فيها انتساخ الجينات.

أما بالنسبة لآلية عمل هذه المعزازات، فقد بيّن كثيرٌ من الأبحاث أن عوامل الانتساخ النوعية STFs المرتبطة بهذه المعزازات تتآثر مع عوامل الانتساخ العامّة GTFs وإنزيم بوليميراز الرنا عبر وجود ما يدعى المعقّد الوسيط Mediator Complex الذي يحتوي على أكثر من 20 بروتيناً، وتكون وظيفته الأساسية ربط عوامل الانتساخ العامة والنوعية وبوليميراز الرنا بعضها مع بعض لزيادة إلفة إنزيم البوليميراز للمحضض وتثبيته قبل أن يشرع بالانتساخ. وعلى الرغم من وجود الكثير من المعزازات على مسافة بعيدة من الجين الهدف، فإن انحناء شريط الدنا DNA Bending يؤدي إلى التقارب الفيزيائي لعوامل الانتساخ النوعية المرتبطة بها مع عوامل الانتساخ العامة وبوليميراز الرنا بتواسط المعقّد الوسيط (الشكل 7-19).



(الشكل 7-19) تفعيل الانتساخ بوجود المعقّد الوسيط. (A) ترتبط عوامل الانتساخ العامة على تتالي المحضّض (مشكّلةً جهاز الانتساخ Transcription Apparatus) وعوامل الانتساخ الخاصة على المعزازات وتتاليات تسبق المحضض صُعُداً Upstream Elements إلا أنه وبغياب المعقّد الوسيط لا يحدث اتصال فيزيائي بين جميع البروتينات ولا يتفعّل الانتساخ. (B) بوجود المعقّد الوسيط، تتآثر جميع البروتينات بعضها مع بعض وتثبّت جهاز الانتساخ وبوليميراز الرنا مما يفعّل انتساخ الجين.

4.3.7. الضبط اللاحق للانتساخ للتعبير الجيني عبر التداخل بالرنا Post-Transcriptional Control Throught RNA Interference (RNAi)

على الرغم من أن ضبط التعبير الجيني يحدث بصورة أساسية على مستوى تفعيل الانتساخ، فقد قادت الأبحاث في العقود الماضية إلى الكشف عن الكثير من آليات ضبط التعبير الجيني على مستوى الرنا المرسال المُنتسخ نفسه. تكتنف بعض هذه الآليات جزيئات رنا صغيرة غير مرمّزة Non-Coding RNAs. وعبر ارتباطها بتسلسلاتها المتممة في جزيئات الرنا المرسال، تتداخل هذه الجزيئات بالتعبير الجيني. لذلك يدعى هذا التنظيم اللاحق للانتساخ بالتداخل بالرنا RNA Interference أو RNAi. وأدى اكتشاف هذه الآلية المستخدمة من قبل كثيرٍ من الكائنات حقيقيات النوى إلى إمكانية تحديد وظائف الكثير من الجينات في الكائن الحي، وذلك عبر تثبيط التعبير الجيني لهذه الجينات عن طريق هذا النوع من التداخل ودراسة تأثير ذلك في وظائف الكائن الحي.

يمكن تلخيص آلية التداخل بالرنا كالآتي (الشكل 7-20). تتضمن هذه الآلية جزيئات رنا صغيرة تدعى بجزيئات الرنا المتداخلة القصيرة Short Interfering RNAs أو siRNAs وجزيئات الرنا الأصغري microRNAs أو miRNAs. يتم إنتاج هذه الجزيئات، التي يبلغ طولها بين 21 إلى 28 شفعاً نوكليوتيدياً،

من جزيئات رنا مضاعف الطاق أطول عبر بروتينات لها فعالية إنزيمية مدرِّكة لجزيئات الرنا مضاعف الطاق تدعى الإندونكلياز Endonucleases. وبسبب كون هذه الإنزيمات تشطر Dice الرنا الطويل إلى قطع صغيرة، فإنها تدعى الإنزيمات الشاطرة Dicer Enzymes. ترتبط الجزيئات siRNAs وmiRNAs المنتجة عبر الإنزيمات الشاطرة بشكل متمم للأسس النوكليوتيدية الموجودة في الرنا المرسال النوعي لها. وفي هيولى الخلية، تندرج جزيئات siRNAs وmiRNAs ضمن جزيئات بروتينية ريبونوكليوتيدية (أي تحتوي بروتينات مرتبطة بالرنا). نتيجةً لذلك، يتم فك ارتباط طاقي الجزيئات siRNAs أو miRNAs، ويتم تخريب واحد فقط من الطاقين، بينما يتمكّن الطاق الوحيد المتبقّي من الارتباط مع جزيء الرنا المرسال النوعي له والمتمم Complimentary لتسلسل الأسس النوكليوتيدية المحتواى في هذا الطاق. وبسبب أن الفعالية المُجمَلة لهذه الآلية هي تثبيط ترجمة الرنا المرسال في الخلية، تدعى البروتينات الريبونوكليوتيدية بمعقّد الإسكات المحرّض بالرنا RNA-Induced Silencing Complex أو RISC. ويكون تثبيط الترجمة عبر آليتين اثنتين:

- طالما كان التكامل النوكليوتيدي Base-Pairing بين الرنا المحتوى ضمن معقد RISC وبين تسلسل الرنا المرسال تامّاً Perfect، يقوم معقّد RISC بشطر الرنا المرسال في منتصف القطعة التي يحصل فيها هذا التكامل النوكليوتيدي، ويتدرّك لاحقاً الرنا المرسال. يمكن لمعقّد RISC بعد تحطيمه للرنا المرسال أن يرتبط بجزيء رنا مرسال آخر ويحرّض شطره أيضاً، وهكذا. تدعى جزيئات الرنا الصغيرة المسؤولة عن شطر الرنا المرسال عبر هذه الآلية بـ siRNAs.
- في حال كون التكامل النوكليوتيدي بين جزيئات الرنا المتداخلة ضمن معقد RISC وبين الرنا المرسال غير تام Imperfect، لا يُشطَر عندها الرنا المرسال. بل في المقابل، تتثبط فقط ترجمة الرنا المرسال المرتبط بشكل وثيق بمعقد RISC. تدعى جزيئات الرنا المسؤولة عن هذه الآلية لتثبيط الترجمة بجزيئات الرنا الأصغري miRNAs. لجزيئات miRNAs جينات عديدة كشف عن 125 جين منها في مجين الإنسان حتى الآن، تعطي كل جين منها لدى انتساخها جزيء رنا أصغرياً وحيد الطاق إلا أنه يحتوي على مناطق متكاملة ضمن الطاق الواحد يمكنها أن ينثني بعضها على بعض لتشكّل بنية ملقط الشعر التي يلتقطها لاحقاً معقّد الـ Dicer في هيولى الخلية ويشطرها، ويفكك بنيتها الثانوية مما ينجم عنه طاق واحد فقط من الرنا الأصغري بحجم 21 إلى 23 شفعاً نوكليوتيدياً يؤدي عمله كمثبّط للترجمة بالآلية التي تم شرحها آنفاً.

في الحيوانات، يوجد التتالي المستهدَف من قبل معقّد RISC في المناطق 3` غير المترجمة أو 3`UTR من جزيء الرنا المرسال، وعادة ما تتكرّر التسلسلات المستهدَفة في هذه المنطقة.

5.3.7. التعبير الجيني وتنظيم المادة الصبغية Gene Transcription & Chromatin Organization

تتألف صبغيات حقيقيات النوى من أجزاء متساوية من الدنا والبروتين، ويشار إلى ذلك معاً بالمادة الصبغية أو الكروماتين Chromatin. وتختلف الخصائص الكيميائية للكروماتين على طول الصبغيات. ففي بعض المناطق على سبيل المثال، تكون بروتينات الهستونات، التي تشكّل معظم البروتينات في الكروماتين، مؤستلة Acetylated (مضافاً إليها مجموعات من الأستيل)، وفي بعض المناطق الأخرى تكون بعض النوكليوتيدات ممتيلة Methylated (مضاف إليها مجموعات من الميتيل). ويمكن لهذه التعديلات الكيميائية أن تؤثر في الفعالية الانتساخية للجينات. كما تؤدي بروتينات الرزم Packaging في مناطق أخرى من الكروماتين دوراً مهماً في تنظيم التعبير الجيني.

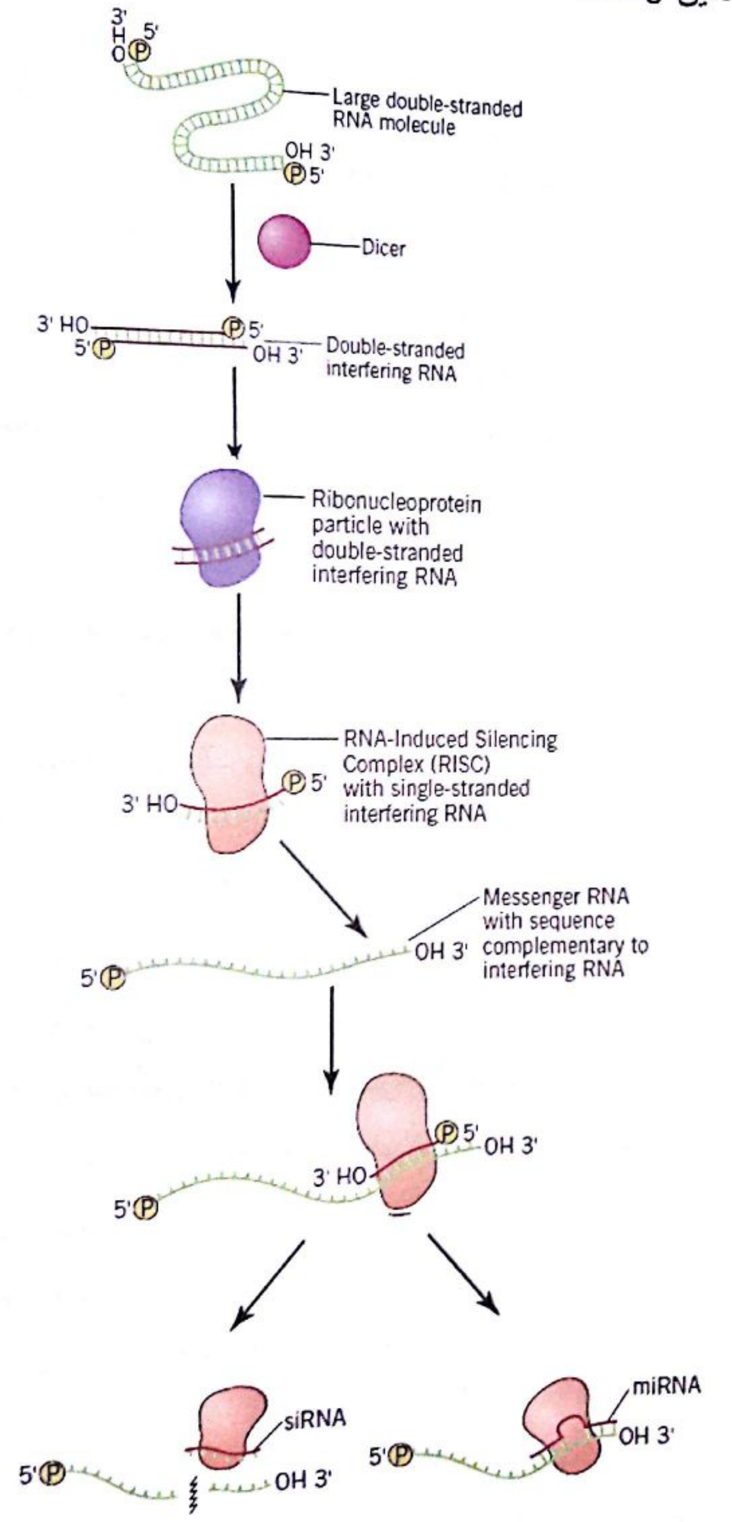
1.5.3.7. الكروماتين الحقيقي والكروماتين المتغاير

يؤدي التغاير في كثافة الكروماتين داخل النوى إلى اختلاف في تلوّن الصبغيات بالملونات المستعملة للكشف عنها. تدعى المادة المتلوّنة بشدّة بالكروماتين المغاير Heterochromatin، والمادة الأقل تلوّناً بالكروماتين الحقيقي Euchromatin (الشكل 7-21).

تم الكشف عن أن غالبية جينات حقيقيات النوى تقع في الكروماتين الحقيقي، وحين نقل بعض هذه الجينات إلى منطقة الكروماتين المغاير في بعض التجارب المخبرية، فإن هذه الجينات تتصرف بشكل غير اعتيادي، وفي بعض الحالات لا تبدي أي وظيفة. وقد قادت هذه الاكتشافات إلى علم حديث سمّي بالتوالي المتخلق أو علم ما فوق الجينات Epigenetics الذي يُعنى بالصفات الموروثة ليس عن طريق وراثة تسلسل دنا الجينات نفسه بل عن طريق وراثة موقع الجينات في مناطق فعالة أو غير فعالة انتساخياً. وأوضح الكثير من الأبحاث أن الجينات الواقعة في المناطق الفعالة انتساخياً (الكروماتين الحقيقي) تكون مفتوحة Open وأكثر قابلية للارتباط بعوامل الانتساخ من تلك الجينات القابعة في الكروماتين المغاير حيث يكون الدنا في هذا الأخير ملتفاً بكثافة على البروتينات، ولا يمكن بذلك للعديد من عوامل الانتساخ الوصل إلى مواقع ارتباطها النوعية على شريط الدنا.

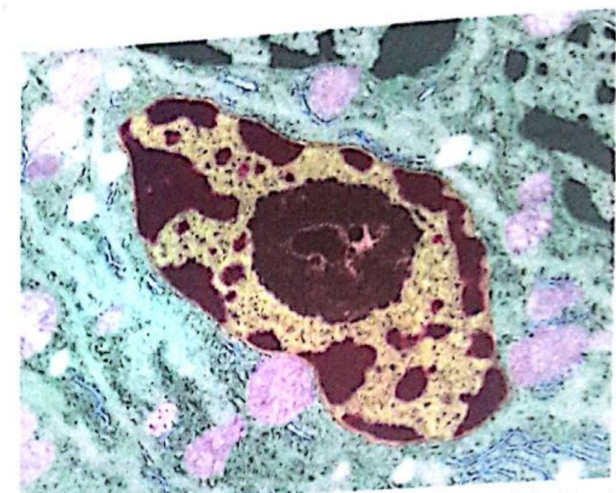
وقد طرح ذلك تساؤلات عدّة عما يحدث لالتفاف الدنا حول البروتينات خلال الانتساخ، وهل تتراوح الجسيمات النووية Nucleosomes، المؤلفة من التفاف الدنا حول بروتينات الهيستونات، بين الشكل المفتوح Open والمغلق Closed مع مرور بوليميراز الرنا؟ وجاءت الإجابة عن هذه التساؤلات بعد كشف أن الجسيمات

النووية تخضع للتغيير بتأثير معقدات بروتينية تسهل عمل بوليميراز الرنا. وتدعى هذه التغيرات تحضيراً للانتساخ بإعادة نمذجة الكروماتين Chromatin Remodeling.



(الشكل 7–20). التداخل بالرنا. يقوم إنزيم الدايسر بشطر جزيء رنا طويل مضاعف الطاق إلى جزيئات رنا مضاعف الطاق قصيرة (21–28 شفع مضاعف) يحوّلها معقد RISC إلى طاق أحادي يرتبط بوجود RISC مع التتالي المتمم له

في جزيء الرنا المرسال، ويقوم بتحطيمه في حال التكامل الكلي (إلى اليسار) أو بالارتباط الوثيق به مثبّطاً بذلك ترجمة الرنا المرسال (إلى اليمين).



(الشكل 7-21). بنية الكروماتين الحقيقي (المنطقة غير الكثيفة باللون الأصفر) والكروماتين المغاير (المنطقة الكثيفة باللون البني) داخل نواة خلية في الطور G1، وتبدوفي الشكل أيضاً النويّة Nucleolus كمنطقة كثيفة في منتصف النواة.

2.5.3.7. إعادة نمذجة الكروماتين Chromatin Remodeling

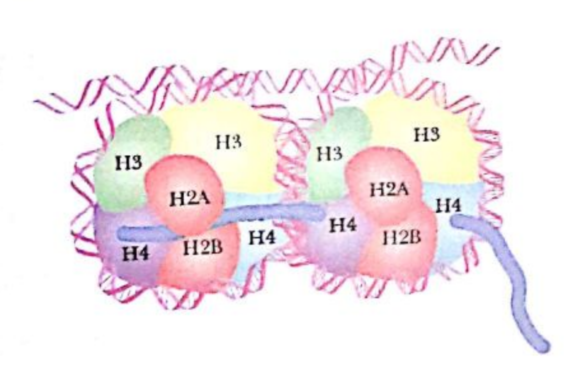
أضيف في العقدين الماضيين إلى مصطلح علم الجينات Genetics البادئة Epi ذات الأصل اللاتيني وتعني ما وراء أو فوق. ويهتم علم التخلق المتوالي Epigenetics أو علم ما وراء الجينات بالتغيرات الموروثة في التعبير الجيني، ولكن تلك المستقلّة عن تسلسل الجينات نفسها التي تؤدي إلى إعادة نمذجة الكروماتين، بحيث تنعكس تلك التغيرات على مستويات جزيئات الرنا المرسال النوعية لبعض الجينات، وليس في تسلسل الأحماض الأمينية للبروتينات التي ترمّزها. من أهم العوامل المسيطرة على التخلّق المتوالي اثنان هما أستلة الهستونات ومثيلة الدنا.

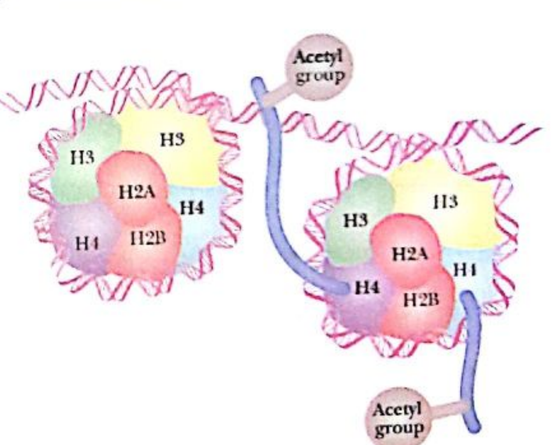
1.2.5.3.7 .أستلة الهستونات Histone Acetylation

تم تحديد عدد من المعقدات المشاركة في إعادة نمذجة الكروماتين. من أهم تلك المعقدات الإنزيمات التي تضيف مجموعات أستيل إلى الحمض الأميني الليزين بمواقع محددة في هستونات الجسيمات النووية. وتدعى هذه الإنزيمات لذلك بناقلات أستيل الهستون Histone Acetyl Transferases أو HATs، إذ تبيّن أن أستلة الهستونات تترافق مع زيادة في التعبير الجيني، بسبب أن إضافة مجموعات الأسيتيل للهستون تُرخي الرزم الوثيق بين الدنا والهستونات في الجسيمات النووية (الشكل 7-22). يبدو أن فعالية بعض

إنزيمات الكيناز المُفسفِرة تسبق فعالية إضافة مجموعات الأستيل وتمهّد لها، فعلى سبيل المثال تكون فسفرة ثمالة السيرين في الهستون 4 ضرورية لأستلة ثمالة الليزين في الهستون نفسه. تؤدي هذه التعديلات إلى إرخاء الكروماتين وجعله سهل الوصول من قبل عوامل الانتساخ، وبالتالي زيادة الفعالية الانتساخية.

مع ذلك، يمكن للكروماتين الفعال أن تعاد نمذجته إلى الكروماتين غير الفعال. يتواسط هذا النوع من تكثّف الكروماتين تعديلان كيميائيان حيويان لهستونات الكروماتين؛ الأول هو نزع مجموعات الأستيل Deacetylation، وتقوم بذلك إنزيمات نازعات أسيتيل الهستونات Histone Deacetylases أو HDACs، والثاني هو المتيلة Methylation، التي تحفّزها إنزيمات ناقلات ميتيل الهستونات Histone Methyl Transferases أو HMTs. إضافةً لذلك، يمكن أن تجري المتيلة لبعض النوكليوتيدات في الدنا عبر مجموعة من الإنزيمات تدعى ناقلات ميتيل الدنا DNA Methyl Transferases أو DNMTs. ويكون الكروماتين الذي تعرّض لهذه التعديلات سواءً إزالة الأستلة أم إضافة الميتيل غير فعالٍ انتساخياً. وسنتحدّث فيما يلي بشيء من التفصيل عن متيلة الدنا (أو تمتيل الدنا).





(الشكل 7–22). (A) كروماتين غير مؤستل، وتبدو فيه البروتينات مكدّسة ومتجمّعة بكثافة حول شريط الدنا. (B) تغير بنية الكروماتين بعد أستلة ذيل الهستون H4، وتبدو هنالك منطقة من الدنا خالية من الهستونات حيث يمكن لعوامل الانتساخ الارتباط بها.

3.5.3.7. مَتْيَلَة (أو تمتيل) الدنا DNA Methylation

من أصل ما يقارب 3 مليارات شفع أساس في مجين الثدييات، يكون نحو 40% منه تكامل بين شفع الغوانين سيتوزين، وتكون نحو 2 إلى 7 % من هذه الأشفاع مُمَتْيَلَة (أضيف لها مجموعة ميتيل إلى السيتوزين على الكربون 5). ويوجد معظم أسس السيتوزين الممتيلة في الأشفاع المثنوية:

5` mCpG 3`

3` GpCm 5`

حيث ترمز mC إلى الميتيل سيتوزين وp إلى الرابطة الفسفاتية ثنائية الإستر بين السيتوزين والغوانين. وتُختَصَر هذه البنية عند الإشارة إليها بـ mCpG أو CpG.

يكون توزع ثنائيات CpG غير متناسق في المجين، مع وجود كثير من قطع الدنا القصيرة التي تحوي كثافة أعلى من ثنائيات CpG من غيرها من مناطق المجين. تدعى هذه القطع الغنية هذه الثنائيات بجُزُر CpG أو CpG Islands، يتراوح طولها عادةً بين ألف وألفين شفع أساس. يوجد في المجين البشري نحو 30 ألف من هذه الجزر تتوضّع غالباً قرب مواقع انتساخ الجينات، وفي حالات كثيرة في منطقة المحضّض Promoter نفسه، حيث غالباً ما يكون السيتوزين الواقع في هذه الجزر غير مُمتيَل. أما في المواضع التي يكون فيها السيتوزين في جزر CpG ممتيلاً، يكون الانتساخ مثبَّطاً. ويشاهد ذلك بصورة كبيرة لدى إناث الثدييات، إذ يكون الصبغي X غير الفعال مُمَتْيلاً بشدة. ويبدوأن هنالك بروتينات ترتبط بجزر CpG الممتيلة قرب مواقع الانتساخ وتمنع بوليميراز الرنا من الارتباط مثبطةً بذلك فعالية الانتساخ للجين التي تليها.

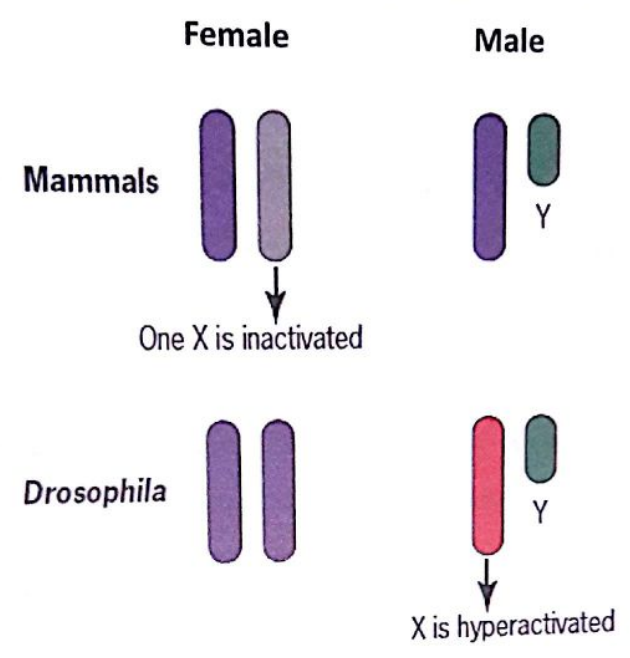
تنتقل حالة المتيلة بشكل نسيلي Clonal من الخلية الأم إلى الخلية البنت خلال الانقسام. وحين يكون تتالي الدنا ممتيلاً، يكون كل من طاقي الدنا ممتيلاً. وبعد تضاعف الدنا نصف المحافظ والمؤدي إلى اصطناع طاق جديد مكمل لكل من طاقين دنا الخلية الأم، تقوم إنزيمات معيّنة بمتيلة كل من الطاقين الجديدين بشكل تحافظ من خلاله على نمط المتيلة نفسه الكائن في دنا الخلية الأم. وهكذا، يعدّ نمط المتيلة أحد العناصر الأساسية للتخلق المتوالي Epigenetics، الذي تحافظ فيه الخلايا البنت على نفس نمط المتيلة، ومن ثم نفس الفعالية الانتساخية، لجينات الخلايا الأم عند الانقسام.

ولا بدّ أخيراً من الإشارة إلى أنّ أستلة الهيستونات تعدّ أيضاً تعديلاً مرتبطاً بالتخلق المتوالي، على الرغم من أن آلية الحفاظ على نفس نمط الأستلة بين الخلايا الأم والبنت غير معروف بدقة حتى الآن لكن هنالك دلائل على أنه مرتبط أيضاً بنمط المتيلة في شريط الدنا.

5.3.7. تفعيل وتثبيط كامل الصبغيات

تكون الكائنات التي تملك جمْلة تحديد الجنس من نمط XX/XY أمام مشكلة توحيد فعالية الجينات المرتبطة بالصبغي X في كلا الجنسين. وفي الثدييات، يتم حل هذه المشكلة بتثبيط عشوائي لأحد الصبغيين X لدى الإناث (الشكل 7–23). وهكذا، تمتلك كل أنثى العدد نفسه من الجينات الفعالة انتساخياً لدى الذكر. مع ذلك، ففي ذبابة الخل، لا يحصل تثبيط لأي من الصبغيين X لدى الأنثى، بل تحصل زيادة كبيرة في الفعالية

الانتساخية للجينات الواقعة على الصبغي X لدى الذكر و حيث تعوّض عن وجود نسخة واحدة من الصبغي X لديه. يهدف ما سبق، سواء في الثدييات أو ذبابة الخل إلى ما يدعى معاوضة الجرعة الجينية Gene Dosage Compensation التي تحقق التقارب في مستويات البروتينات المرمّزة بالجينات الموجودة على الصبغي X لدى كل من ذكر وأنثى الكائن الحي.



(الشكل 7-23) معاوضة الجرعة الجينية للجينات الموجودة على الصبغي X. (أعلى) لدى الثدييات تتم المعاوضة بتثبيط عشوائي لأحد الصبغيات X لدى الأنثى. (أسفل) في ذبابة الخل تتم المعاوضة بزيادة الفعالية الانتساخية للصبغي X لدى الذكر.

وكمثال عن تثبيط كامل الصبغي سندرس الآلية الجزيئية لتثبيط الصبغي X لدى إناث الثدييات (الشكل 7-24 يسار).

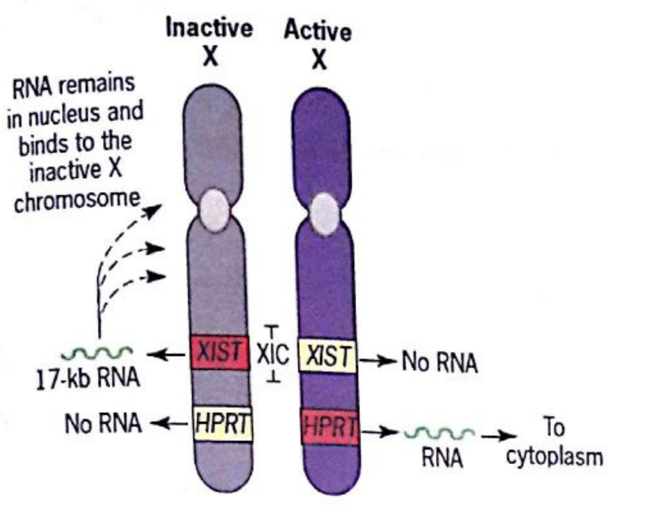
يبدأ تثبيط الصبغي X في موقع محدد يدعى بمركز تثبيط الصبغي X Inactivation Center X أو XIC، ومن ثم يمتد في كلا الاتجاهين ليشمل كامل الصبغي X. مع ذلك، لا تكون جميع الجينات صامتة وغير فعالة في الصبغي المثبَّط. ومن الجينات التي تبقى فعالة انتساخياً جين تدعى XIST وهي اختصار X Inactive Specific Transcript أو المُنتَسَخ النوعي للصبغي X المثبَّط، وتقع هذه الجين في موقع XIC نفسه. في الإنسان، ترمّز جين XIST جزيء رنا يبلغ طوله 17 ألف شفع أساس لا يُترجم إلى بروتين، وبحيث يكون الرنا المنتسخ نفسه هوالجزيء الفعال في عملية تثبيط الصبغي، ويتوضّع في النواة دون أن يخرج إلى هيولى الخلية.

كشف كثير من الأبحاث أن التعبير الجيني عن جين XIST يبدأ في كلا الصبغيين X لدى الإناث في المرحلة الجنينية لكن الرنا الناتج عن الانتساخ يكون غير ثابتاً ويتدرّك بسرعة. وخلال تطور الإناث، يتم تثبيت الرنا المنتَسَخ لواحد فقط من الصبغيين X بينما يتدرّك الرنا للصبغي الآخر بالإضافة إلى تثبيط انتساخ جين XIST في الصبغي الذي يبقى فعالاً عبر متيلة محضض جين XIST.

وهكذا، لدى الأنثى، يصبح أحد الصبغيين X (وهو الذي استمر فيه انتساخ جين XIST) مغطّىً بجزيء رنا XIST، بينما يبقى الصبغي X الآخر (وهو الذي عُطّل فيه انتساخ جين XIST) حراً وغير مغطّى برنا XIST. ويبدو أن اختيار أي من الصبغيين سيتم تثبيطه وتغطيته بجزيء رنا XIST يكون عشوائياً. وهكذا، تبقى معظم الجينات الموجودة في الصبغي X المثبَّط غير فاعلة انتساخياً، بينما تبقى جينات الصبغي النشيط وغير المرتبط برنا XIST فاعلة انتساخياً. وبكلمات أخرى، فإن الصبغي X الذي يبقى نشيطاً وفاعلاً هوالصبغي التي تتثبّط فيه الجين XIST ولا تعطي جزيء رنا XIST .

يمكن تحديد الصبغيات X المثبَّطة بسهولة في خلايا الثدييات. وفي الطور البيني Interphase، تتكثّف هذه الصبغيات إلى كتلة تتلون بشدة متوافقة مع غشاء النواة، وتدعى جسيم بار Barr Body، ويُزال تكثفها فقط في الطور S من دورة الخلية حتى تتمكّن من مضاعفة الصبغي قبل أطوار الانقسام.

وأخيراً، يمكننا أن نتحدث في هذا السياق عن ظاهرة طريفة تبدوفي القطط التي تدعى قطط كاليكو Calico Cats المبرقعة، وهي تطبيق مباشر لتثبيط الصبغي X لدى إناث الثدييات (الشكل 7−24 يمين). ترمّز البروتينات المسؤولة عن لون الفراء لدى هذه القطط جينات تتوضع على الصبغي X. وإذا افترضنا أن أحد الصبغيين يحتوي على أليل يعطي بروتيناً أسود اللون والآخر يعطي بروتيناً بني اللون فإن المفترض أن يكون لون فراء القطة مزيجاً من كلا اللونين الأسود والبني في حال كان نمط الوراثة متساوي السيادة Codominant. لكن وبما أن أحد الصبغيين X يكون فاعلاً انتساخياً والآخر مثبَّطاً انتساخياً، وبما أن اختيار تثبيط أي من الصبغيين يكون باكراً في المرحلة الجنينية وعشوائياً، لذلك تحتفظ الخلايا التي تثبّط لديها الصبغي الحامل للأليل أسود اللون بأليل اللون البني الفعال انتساخياً، والعكس بالعكس. وبما أن الصبغي المثبّط يكون هونفسه في جميع ذراري الخلية الأم التي اختارت تثبيط أحد الصبغيين، وأبقت على الآخر فعّالاً، عندئذٍ، نرى أن عدداً كبيراً من خلايا البشرة لدى قطة كاليكو يكون لديها نفس لون الفراء البني (الأليل الأسود في الصبغي المثبَّط)، وتظهر بشكل لطخة بنية، بينما يكون لدى عدد آخر من خلايا البشرة نفس لون الفراء الأسود (الأليل البني في الصبغي المثبَّط). وهكذا، تظهر على فراء قطة كاليكوعدة لطخات متوزعة بين اللونين البني والأسود بين كثير من الخلايا الأخرى التي سيطرت فيها جينات أخرى، ومنعت ظهور أي من اللونين، فأعطت لون الفراء الأبيض.





(الشكل 7-24). تثبيط الصبغي X في الخلايا الجسمية عند الإناث. (يسار) دور جين XIST الفعالة انتساخياً في الصبغي X المثبَّط التي تعطي جزيء رنا يبقى في النواة ويرتبط على طول الصبغي X المثبَّط مانعاً بذلك انتساخ الجينات التي تكون عليه، ومنها على سبيل المثال جين HPRT التي يساهم منتجها في استقلاب البورينات، في حين تكون جين XIST غير فعالة انتساخياً في الصبغي X الآخر وبذلك تبقى الجينات الموجودة عليه فعالة انتساخياً، ومنها HPRT. (يمين) قطة Calico المبرقعة التي تظهر اللطخات في فرائها نتيجة تثبيط كامل الصبغي X ووجوده كجسيم بار Barr Body في الخلية الأم التي تعطي عدداً من الخلايا البنات يكون في جميعها جسيم بار هو الصبغي X المثبط نفسه في الخلية الأم. فإذا كان جسيم بار في الخلية الأم يحتوي على الأليل ذي اللون البني تظهر جميع خلايا اللطخة الناتجة عن انقسام الخلية الأم بلون أسود، والعكس بالعكس بالنسبة لخلايا اللطخة البنية، إذ يكون الأليل الأسود في جسيم بار.

خاتمة

تعرّفنا في هذا الفصل على بعض من أهم آليات ضبط التعبير الجيني لدى كل من بدائيات وحقيقيات النوى، ووجدنا أن تلك الآليات تختلف بشكل جذري بينها. ومن أهم الأسباب لذلك أن كلاً من عمليتي الانتساخ والترجمة تحدثان بشكل متزامن في بدائيات النوى بسبب غياب النواة والغلاف النووي، بينما يحتّم وجود النواة في حقيقيات النوى وجود آليات منفصلة لضبط التعبير الجيني في كل من نواة وهيولى الخلية. من جهةٍ أخرى، تبدي بدائيات النوى مرونة عالية جداً في التكيّف مع محيطها الأمر الذي ينعكس على سرعة استجاباتها للتغير في الشروط البيئية التي تُيسّرها منظومة المشغّل التي تمتلكها بينما تغيب هذه المنظومة في معظم حقيقيات النوى الذي يميّزها أيضاً تمايز خلاياها الذي يحتّم وجود عوامل انتساخ نوعية للنسج تتحكّم بانتساخ جينات نوعية فقط في بعض الخلايا دون غيرها. وأخيراً، تفرض نمذجة الكروماتين في حقيقيات النوى نفسها بقوة كآلية تخلّق متوالٍ تتحكّم في تشغيل وإيقاف عدد هائل من الجينات مرةً واحدة عبر التحكّم في موقع هذه الجينات في الكروماتين الحقيقي والمتغاير وبحيث تعطي للخلايا المتمايزة هويتها التي تورّثها للخلايا البنات الناتجة عن انقسامها.

الفصل الثامن

تقانات الهندسة الوراثية

Genetic Engineering Technologies

المحتويات Contents

1.8. مقدّمة

إن من أهم ما يميز تطور علم الوراثة خلال العقدين الماضيين هوالانتقال من مفهوم الجين Gene إلى مفهوم المجين Genome، ولاحقاً إلى علوم المجين Genomics. في الواقع، لم يكن هذا التوسع في المفاهيم ليحدث لولا التقدم الهائل في الوسائل التقانية التي مكّنتنا من دراسة تسلسل الجينات التي نملكها ومقايسة التعبير الجيني للآلاف منها بعد أن اقتصرت الدراسات في القرن الماضي على مجموعة من الجينات لا يتجاوز عددها أصابع اليدين. وسنتعرّف في هذا الفصل كثيراً من التقانات الجزيئية التي تمكّننا اليوم من فهم الآليات المعقّدة التي تتحكّم بجيناتنا وكيفية وراثتها، ومن ربط ذلك كلّه مع النمط الظاهري Phenotype للكثير من الأمراض الوراثية، الأمر الذي لا شك أنه سيعمّق فهمنا لوراثة الجينات الطافرة وآليات التعبير الجيني، وينعكس إيجاباً على تطوير سبل فعالة في معالجة الكثير من الأمراض التي يبدوكثير منها مستعصياً حتى يومنا هذا.

2.8. تضخيم الدنا DNA Amplification

يحتوي المجين الفرداني Haploid Genome لدى الثدييات قرابة 3 مليارات شفع من النوكليوتيدات (في الإنسان المجين الفرداني هودنا الـ 23 صبغياً). في المقابل يبلغ متوسط حجم إكسونات الجين الواحدة إذا ما جُمعَتْ معاً نحو3 آلاف شفع نوكليوتيدي، مما يمثّل جزءاً من المليون من كامل حجم دنا المجين الفرداني. وهكذا، يشبه البحث عن التتاليات المرمّزة في الجينات ضمن الدنا المجيني كالبحث عن إبرة في كومة قش. استدعى ذلك البحث لعقود عن وسائل لتضخيم نوعي لتلك التسلسلات، إذ تعتمد معظم التقانات المستخدمة في تحليل الجينات وتتاليات الدنا الأخرى على وجود تلك التتاليات بكميات معتبرة وبنقاوة عالية. وكان النجاح أخيراً من نصيب العالم Kary Mullis الذي نال جائزة نوبل في الكيمياء عام 1993 لاكتشافه المثير وهوتفاعل بوليميراز الدنا التسلسلي الذي مهّد الطريق لتضخيم تتاليات نوعية من الدنا بطريقة سهلة وبسيطة. واستبدَل هذا التفاعل الطريقة الأقدم نسبياً التي كانت تعتمد على إدخال الجين أو التتالي المراد تضخيمه ضمن الجراثيم والاعتماد على المنظومة الطبيعية لدى الجرثوم لنسخ الصبغي أو البلاسميد الخاص به لتضخيم التتالي المستهدَف المُدخل إلى الجرثوم. وتتبع هذه الطريقة الأخيرة تقانة الدنا الماشوب Recombinant DNA Technology التي سنفرد لها فقرة خاصة لاحقاً.

1.2.8. تفاعل البوليميراز السلسلي التقليدي
Conventional Polymerase Chain Reaction (PCR)

يعدّ تطوير تفاعل الـ PCR في ثمانينيات القرن الماضي، الذي سمح بتضخيم قطع معيّنة من الدنا وإنتاج ملايين النسخ منها، أهم التطورات النوعية الذي ساهم في الكشف عن الأمراض الوراثية على الإطلاق وتفرّع عنه كثير من التقانات الأخرى.

يعتمد مبدأ التضخيم باختصار على فصل طاقي الدنا الأصليين واستخدام مشارع Primers نوعية للتتالي المراد تضخيمه ترتبط بالتسلسل النوكليوتيدي المتمم لها بعد انصهار طاقي الدنا الأصليين وتفكّك الروابط الهيدروجينية بين النوكليوتيدات المتقابلة نتيجة الحرارة العالية، ليقوم إثر ذلك إنزيم بوليميراز الدنا DNA Polymerase أنتاج طاقين متمّمين لكلّ من الطاقين الأصليين. ويحدث التفاعل بشكل متوالية هندسية لتنتج مئات ملايين النسخ من القطعة في غضون ساعات قليلة (الشكل 8-1). يستخدم هذا التفاعل آلية مشابهة نوعا ما لآلية تضاعف الدنا في الطور S من دورة الخلية، حيث يبدأ التضاعف في الخلية بفصل طاقي الدنا أنزيم الهيليكاز Helicase بدرجة حرارة الخلية 37° س، ومن ثم يقوم إنزيم بوليميراز الدنا برصف النوكليوتيدات المتممة لكل طاق، كلّ على حدة، معتمداً على مشارع أولية من الرنا يضعها إنزيم بوليميراز الرنا RNA Polymerase (أنظر الفصل الرابع). مع ذلك، تشمل الاختلافات الجوهرية بين تفاعل PCR المجرى في المختبر وتضاعف الدنا الخلوي ما يلي:

- يتم فصل طاقي الدنا الأصليين وتحطيم الروابط الهدروجينية بينهما بتسخين عينة الدنا إلى الدرجة 95°س بدلاً من استخدام إنزيم الهيليكاز.
- تُستخدم في تفاعل PCR مشارع من الدنا DNA، وليس من الرنا RNA، عادةً بطول 18-25 أساس نوكليوتيدي متممة في تسلسلاتها للنهاية `3 لكلّ من طاقي الدنا الأصليين حيث ترتبط بهذه النهاية وتشكّل نقطة البداية لعمل إنزيم بوليميراز الدنا.
- يُستخدم في التفاعل إنزيم بوليميراز الدنا المستخلص من جراثيم *Thermus aquaticus*، وهي من العتائق Archea التي تعيش على سفوح البراكين وتصنّف من أليفات الحرارة Thermophils. يدعى هذا الإنزيم بـ Taq DNA Polymerase وهي الأحرف الثلاثة الأولى من اسمه الثنائي، ويتحمل حرارة تصل إلى مئة درجة مئوية دون أن يحصل تخرّب في بنيته. تكون الحرارة المثلى لعمل هذا الإنزيم هي الدرجة 72 م بدلاً من الحرارة 37 م المثلى لعمل إنزيمات الثدييات.

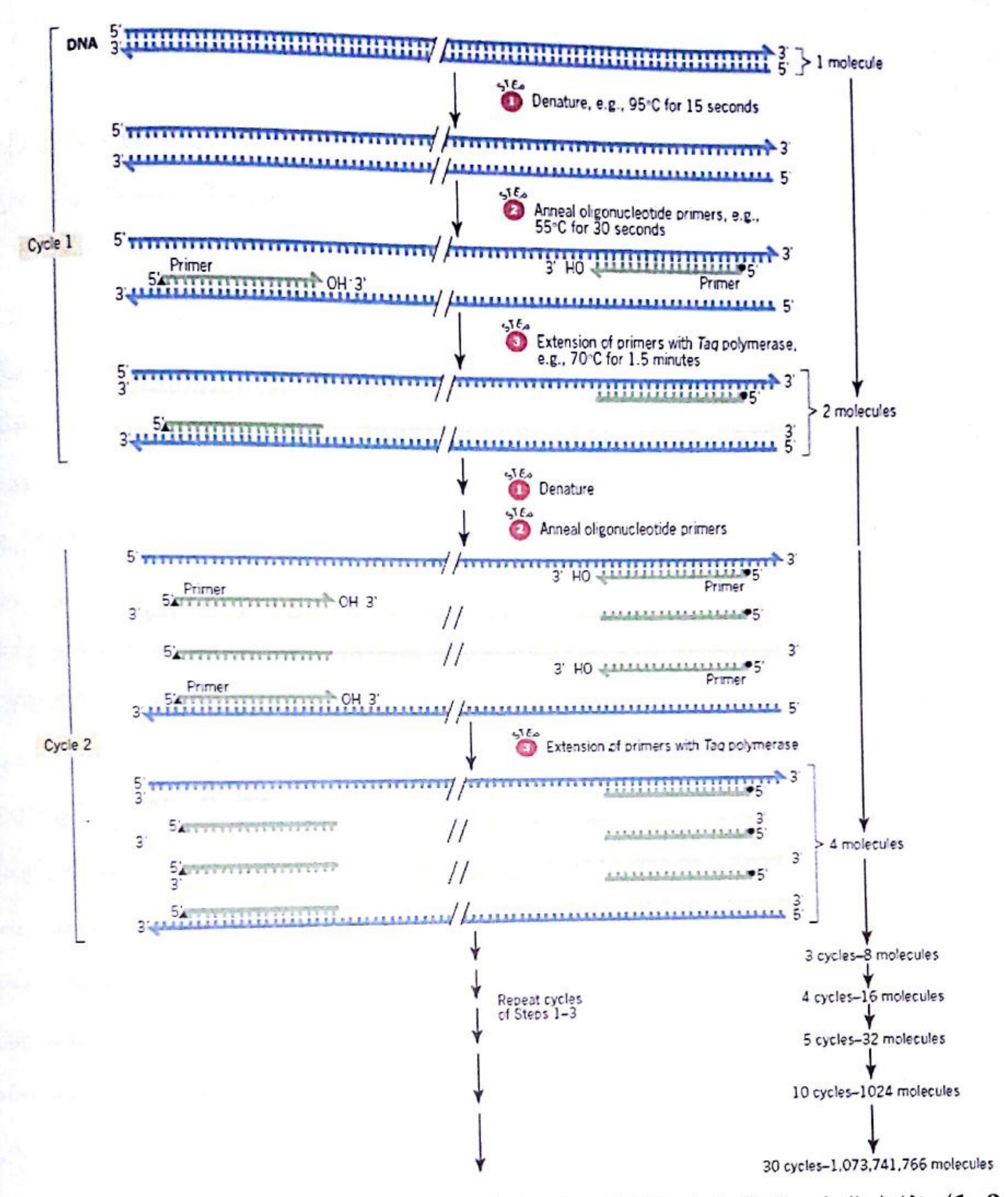
ويتألف تفاعل PCR من ثلاث خطوات أساسية تشكّل جميعها ما يدعى بالدورة Cycle:

1. فصل طاقي الدنا المراد تضخيمه بدرجة الحرارة 94 أو 95 م، وتدعى هذه الخطوة بالصهر Melting أو التمسّخ Denaturation.

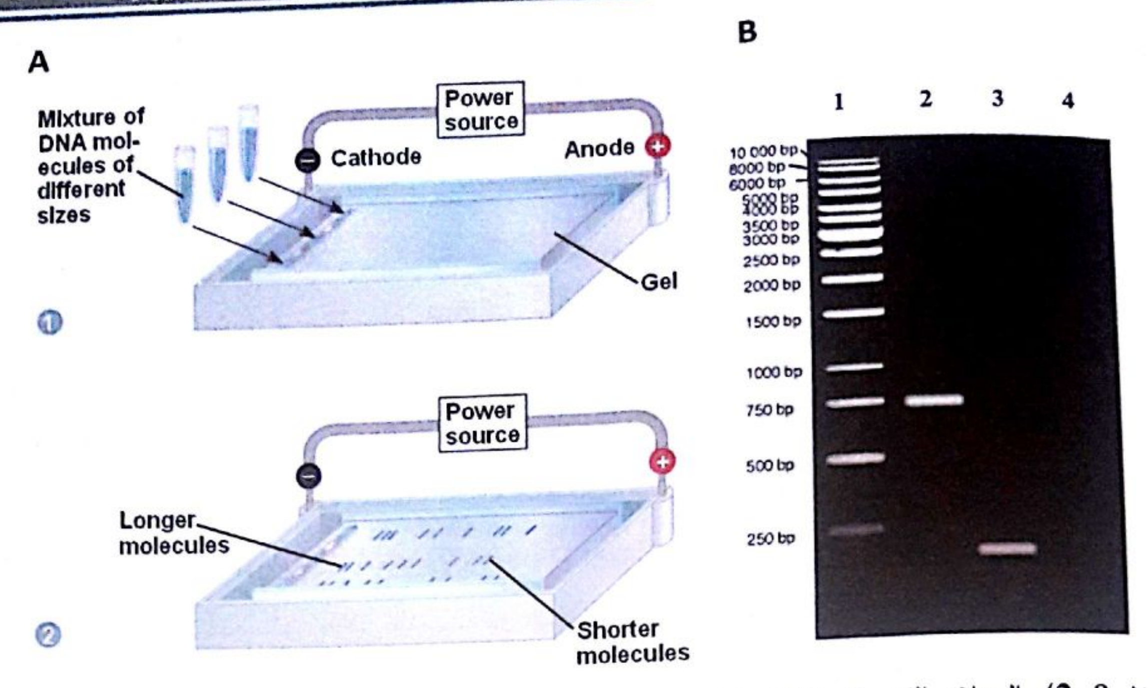
2. ارتباط مشارع الدنا بالتسلسلات المتممة لها في النهاية `3 من كل من طاقي الدنا، وتدعى هذه الخطوة بالارتباط Annealing، وتتم عادة في درجة حرارة تتراوح بين 50 و60 م.
3. رصف النوكليوتيدات المتممّة لتسلسل دنا الطاقين الأصليين من قبل إنزيم Taq معتمداً في ذلك على المشارع المرتبطة بالدنا في الخطوة السابقة، إذ يقوم الإنزيم بإطالة الدنا المتمم لتسلسل الطاقين بالاتجاه `5 إلى `3 للطاق الجديد الذي يصطنعه بدءاً من نقطة ارتباط تلك المشارع بالدنا الأصلي. وتدعى هذه الخطوة بالإطالة Extension.

تُشكّل الخطوات الثلاث السابقة دورة واحدة One Cycle يُعمَل على تكرارها عادة بين 25 إلى 30 مرة. ويُستخدم لذلك جهاز يدعى بالمدوِّر الحراري Thermocycler وظيفته التنقّل بين درجات الحرارة الثلاث (الصهر والارتباط والإطالة) بسرعة كبيرة تبلغ ثوانيَ معدودات، بحيث لا يستغرق التفاعل بأكمله عادة سوى بضع ساعات نحصل في نهايتها على مئات ملايين النسخ من جزيء الدنا المضخَّم (الشكل 8-1).

تُفصَل شدف الدنا الناتجة عن التضخيم في تفاعل الـ PCR التقليدي باستخدام الرحلان الكهربائي Electrophoresis الذي يعتمد على شحنة الدنا السالبة التي تسمح له بالعبور من القطب السالب إلى الموجب عبر هلامة مكوّنة من جزيئات مادتي البولي أكريل أميد Polyacrylamide أو الآغاروز Agarose (الشكل 8-A2). تسمح هلامات البولي أكريل أميد بالفصل الجيّد بين شدف الدنا ذات الأطوال المختلفة، حيث يمكن لهذه الهلامات بتراكيز عالية أن تفرّق بين قطعتي دنا يختلف بعضهما عن بعض بنوكليوتيد واحد فقط، ومن ثم تُمكِّن من كشف طفرات الإقحام Insertion أو الخبن Deletion (أنظر الفصل التاسع). إلا أن صعوبة تطبيق هذه الهلامات المتطلّبة للجهد والوقت من جهة، وسُميّة مادة البولي أكريل أميد من جهةٍ أخرى، قد حالا دون الانتشار الواسع لهذه الهلامات حيث اقتصر استخدامها على المخابر البحثية، واستعيض عنها بهلامات الآغاروز الأسهل تحضيراً والأقل سميّةً على الرغم من أنها لا تحقّق قدرة الفصل أو المَيَز Resolution نفسه. وطُوِّر لاحقاً الرحلان الكهربائي الشعري Capillary Electrophoresis، إذ يجري فصل قطع الدنا عبر هلامات معلّقة مسبقاً في أنابيب شعرية تُحقّق ميزاً عالياً بين شدف الدنا المختلفة في أطوالها. وتُستخدم في الرحلان الكهربائي أنواعه المختلفة عياريات Standards تتألف من قطع من الدنا معروفة الوزن الجزيئي ترحل إلى القطب الموجب تبعاً لحجومها، وتُمكّن من معرفة حجم القطع المضخمة بتفاعل الـ PCR (الشكل 8-B2).



(الشكل 8-1). تفاعل البوليميراز التسلسلي PCR. ويبيّن الخطوات الثلاث المشكّلة لدورة واحدة في تفاعل الـ PCR تبدأ بصهر طاقي الدنا عند درجة حرارة مرتفعة ثم ترتبط المشارع النوعية في النهاية `3 لكل من طاقي الدنا الأصليين في مواقع النوكليوتيدات المتمّمة لها، ثم يقوم إنزيم بوليميراز الدنا في خطوة الإطالة بإتمام تصنيع الطاقين الجديدين المتممين للطاقين الأصليين. عند تكرار الدورات 30 مرة نحصل على نحوملیار نسخة من الدنا المضخَّم لكل جزيء واحد من دنا الأصلي.



(الشكل 8–2). الرحلان الكهربائي لنواتج تضخيم الدنا بتفاعل PCR تقليدي. A) توضع عينات الدنا الحاوية على عدة قطع من الدنا مختلفة الحجم والمشحونة سالباً قرب القطب السالب ويطبّق عليها فرق جهد كهربائي، لتعبر هذه القطع داخل وعبر جزئيات الهلامة باتجاه القطب الموجب وتنفصل قطع الدنا تبعاً لحجمها، بحيث تعبر القطع الصغيرة جزيئات الهلامة بشكل أسرع من القطع الكبيرة. B) رحلان كهربائي لناتجَيْ تفاعل PCR (2،3) مختلفَيْ الحجم، بالمقارنة مع نتيجة سلبية (4) لتفاعل الـ PCR. ويبدوأيضاً مزيج الدنا العياري (1) ويتألف من قطع من الدنا معروفة الوزن الجزيئي مقدّراً بزوج الأسس النوكليوتيدية (bp) ترحل تبعاً لحجمها وتساعد في تقدير حجم قطع الدنا في العينات المجهولة. (المنتج في 2 هو بطول يقارب 750 شفع أساس، والمنتج في 3 هو بطول اقل من 250 شفع أساس)

2.2.8.تفاعل البوليميراز السلسلي بالناسخة العكسية
Reverse Transcriptase PCR (RT–PCR)

يعدّ تفاعل RT–PCR أحد تنويعات تفاعل الـ PCR التقليدي والمختلف عنه أن المادّة الوراثية الأصلية للأول هي جزيئات الرنا المرسال mRNA بدلاً من جزيئات الدنا DNA. يعتمد هذا التفاعل على ما يلي (الشكل 8–3):

- وجود عديد الأدنين Poly A في النهاية `3 لجزيء الرنا المرسال، وهومن التعديلات اللاحقة لانتساخ الرنا المرسال البدئي (انظر الفصل الخامس).
- استخدام مشارع مؤلفة من عديد الثيمين Poly T التي ترتبط بعديد الأدنين في النهاية `3 لجزيء الرنا المرسال.
- استخدام إنزيم الناسخة العكسية Reverse Transcriptase المستخلص من أحد أنواع الفيروسات القهقرية Retroviruses، التي تمتلك مجيناً من الرنا RNA Genome، وتعمل بشكل طبيعي على إعادة نسخه من جزيئات الرنا RNA إلى الدنا DNA بهدف غرس مجين



الفيروس في مجين خلايا الكائن المضيف. ويدعى ذلك بالنسخ العكسي Reverse Transcription لتمييزه من انتساخ الدنا DNA Transcription إلى الرنا المرسال الذي يحصل بشكل طبيعي في جميع الخلايا.

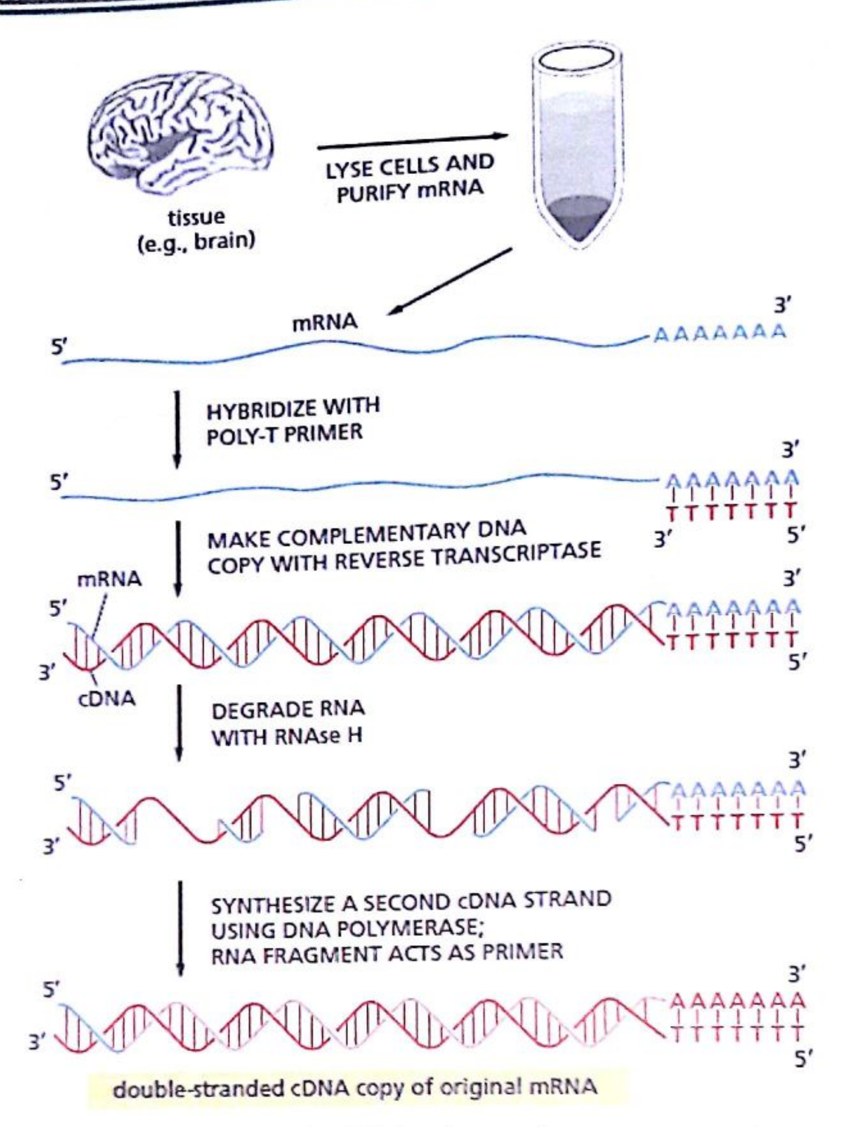
ولدى استخدام هذه الكواشف الثلاثة يتم نسخ طاق متمم من الدنا لجزيء الرنا المرسال يدعى بمتمّم الدنا Complimentary DNA أو اختصاراً cDNA. يتم لاحقاً تحطيم جزيء الرنا المرسال الأصلي عبر استخدام إنزيم RNAse الذي يقوم بحلمهة الروابط بين النوكليوتيدات الريبية لجزيء الرنا، ومن ثمّ يُضاف إنزيم DNA Polymerase لتضخيم الـ cDNA باستخدام مشارع مؤلفة من قطع الرنا المتبقية نفسها، أو مشارع دنا نوعيّة DNA primers وبشكل مشابه لخطوات الـ PCR التقليدي، حيث يرتبط المشرع النوعي لتسلسل الدنا المتمم عند النهاية `3 لجزيء الـ cDNA ليتشكّل طاقان من الدنا بعد إضافة إنزيم بوليميراز الدنا، لتبدأ لاحقاً مراحل تضخيم طاقي الدنا الناتج بشكل مطابق لما تم شرحه سابقاً (الشكل 8-1).

يمكن الاستفادة من تفاعل الـ RT-PCR بتحرّي جزيئات الرنا الفيروسي في مصل الأفراد الذين يشك بإصابتهم بفيروس معيّن كفيروس الإيدز، إذ يستخلص الرنا من بلاسما الدم ومن ثم يجرى تفاعل RT-PCR ويرحّل ناتج التضخيم ويقارن مع عينات شاهدة غير مصابة (الشكل 8-4).

3.2.8.تفاعل البوليميراز السلسلي اللحظي والكمّي
Quantitative Real Time PCR (Q-PCR)

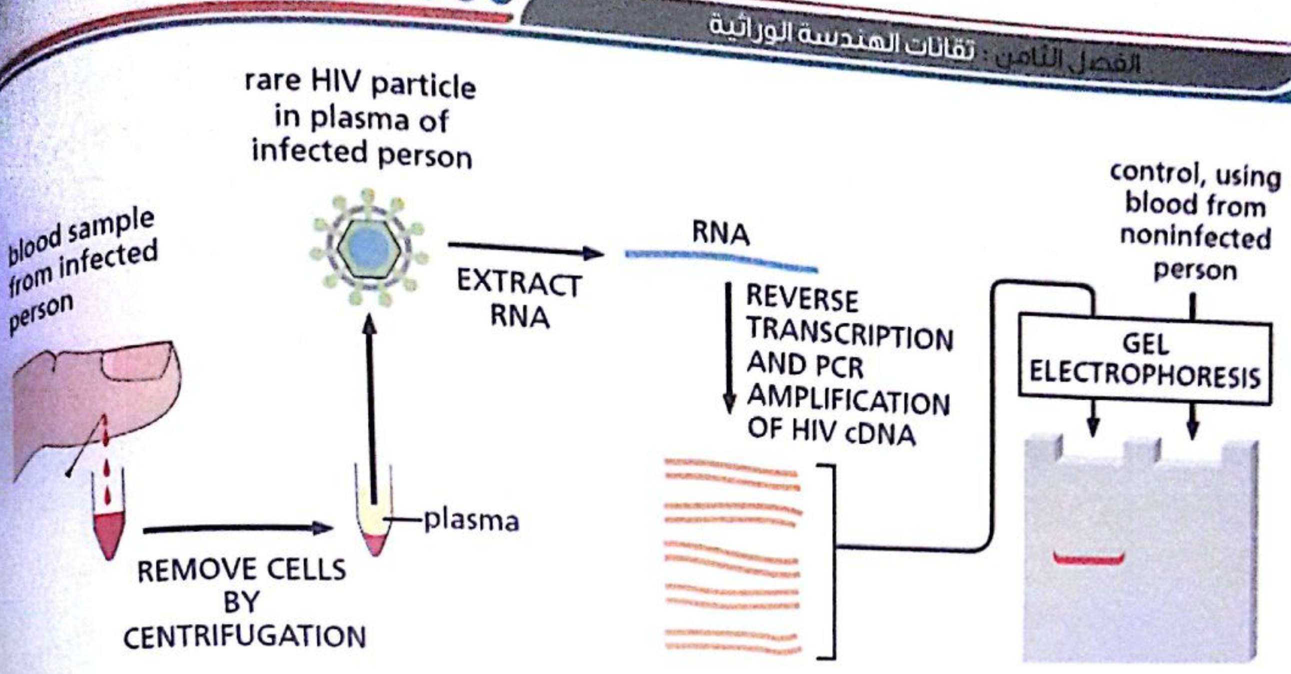
يتألف أي تفاعل إنزيمي من طورين اثنين؛ الطور الخطي Linear Phase الذي تتراكم فيه نواتج التفاعل بشكل أسي ومتزايد، وطور الهضبة Plateau Phase الذي يحصل فيه إشباع للمواقع الإنزيمية بركازات التفاعل Reaction Substrates أو يتثبّط فيه الإنزيم المحفّز نتيجة بعض منتجات التفاعل نفسها. ويخضع تفاعل الـ PCR الإنزيمي لكلا الطورين بحيث تتزايد نسخ الدنا المضخّم بشكل أسّي في الطور الخطي، ومن ثم يبدأ طور الهضبة الذي يبقى عدد نسخ الدنا في ثابتاً أولا يمكن فيه الكشف عن تزايد نواتج التضخيم، حيث تبدو وكأن عددها بقي ثابتاً.

إن من تطبيقات تفاعل الـ PCR هي قياس العدد البدئي لنسخ الدنا الموجودة في عينة ما. على سبيل المثال، قياس حجم الإصابة الفيروسية في خلايا ما عبر قياس عدد نسخ الدنا DNA Copy Number المضخّمة بتفاعل الـ PCR. وتكمن المشكلة الأساسية في أن تفاعل الـ PCR يخضع للتثبيط بعد عدد معيّن من دورات التضخيم مما لا يمكن معه تحديد عدد النسخ البدئية بشكل دقيق. لأجل هذا، أجري تعديل على تفاعل PCR التقليدي يقيس تراكم منتجات الدنا المضخّم بشكل لحظي Real-time وكمّي Quantitative خلال الطور الخطي للتفاعل الإنزيمي، وليس في نهاية التفاعل كما هوالحال ترحيل نواتج التفاعل التقليدي على الهلامة (الشكل 8-5).



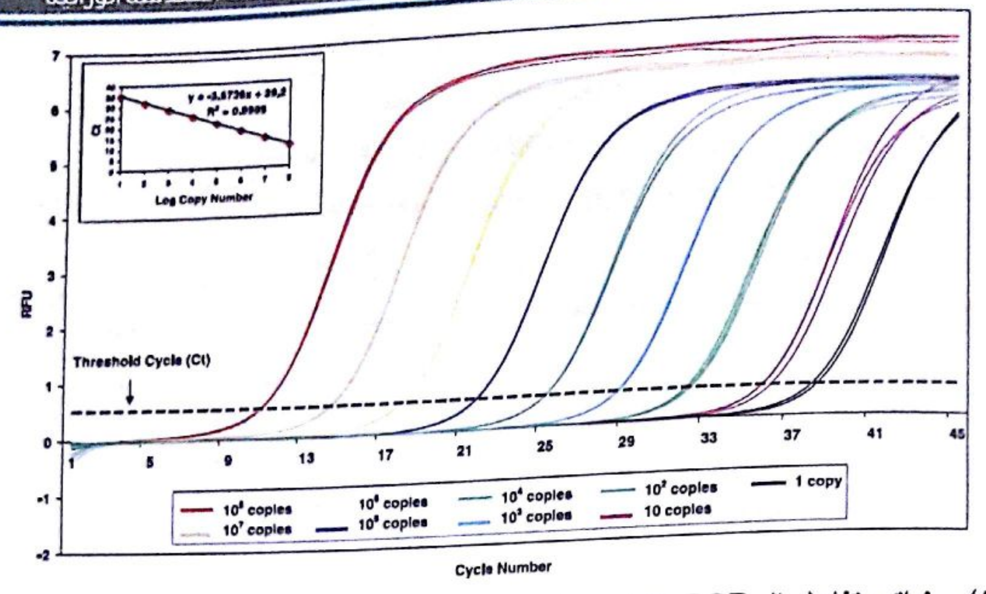
(الشكل 8-3) . مراحل تشكيل الدنا المتمم ثنائي الطاق Double Strand cDNA. يتم استخلاص جزيئات الرنا الكلي من أحد أنسجة الدماغ ويبدأ تفاعل RT-PCR بارتباط عديد الثيمين بالنهاية 3` لجزيئات الرنا المرسال، ويعمل إنزيم Reverse Transcriptase على تشكيل الدنا المتمّم وحيد الطاق Single Strand cDNA. بعد ذلك، يُعمل على تخريب الرنا المرسال بإضافة إنزيم RNAse H ويمكن لقطع الرنا المتبقّية أن تمثّل مشارع يستند عليها إنزيم بوليميراز الدنا لينسخ طاق الدنا المتمم للطاق الأول. وهكذا نحصل على طاقين للدنا المتمم.





(الشكل 8-4). الكشف عن رنا فيروس الإيدز في مصل مصاب، إذ تظهر عصابة في هلامة الرحلان فقط في ناتج تضخيم عينة المريض بتفاعل RT-PCR بينما لا تظهر عصابة في العينة الشاهدة من مريض غير مصاب.

وإضافةً إلى تحديد العدد البدئي لجزيء دنا محدّد (فيروسي أو جرثومي)، فإنّ من التطبيقات المهمة لتفاعل qPCR هي قياس الفرق في التعبير الجيني لجين ما في جمهرتين خلويتين مختلفتين. يستخدم لذلك تفاعل RT-PCR متبوعاً بتفاعل qPCR. على سبيل المثال، يمكن بهذه الطريقة أن نحدّد بدقة الفارق في التعبير الجيني لإحدى الجينات الورمية بين خلايا الثدي السليمة والسرطانية، الأمر الذي لا يمكن إجراؤه بواسطة تفاعل PCR التقليدي بسبب تراكم عدد نسخ دنا الجين الورمي بعد عدد من الدورات، الذي يجعل من الصعوبة بمكان تقدير الاختلاف في عدد النسخ الأولية للرنا المرسال الناتج عن انتساخ الجين في عينتين المقارنة. تستخدم للكشف عن نواتج التفاعل صبغات مفلورة ترتبط بجزيئات الدنا ثنائية الطاق، وتزيد شدة فلورتها بشكل طردي مع تشكيل جزيئات دنا جديدة نتيجة التضخيم. تجري المقارنة بين العينات عادةً بمقارنة ما يدعى بالدورة العتبة Threshold Cycle أو Ct، وهي الدورة التي تبدأ فيها نواتج تفاعل التضخيم بالتراكم فوق مستوى الفلورة البدئي، وترتبط Ct بشكل عكسي مع عدد النسخ البدئية للدنا. فكلّما زاد عدد جزيئات الدنا البدئي، أي كانت الإصابة الفيروسية كبيرة أو التعبير عن الجين عالياً، انخفض رقم Ct (الشكل 8-5).

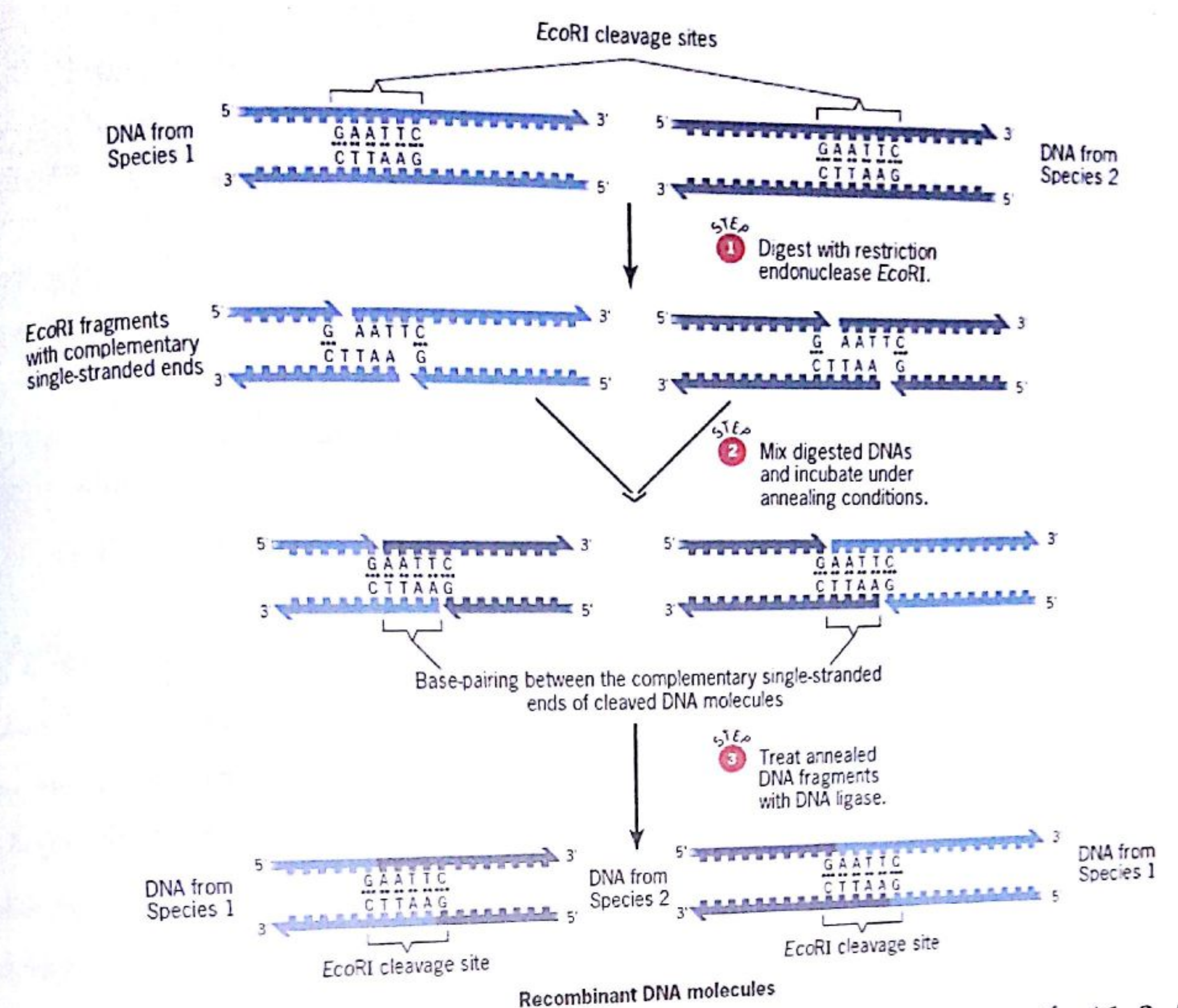


(الشكل 8-5) . نواتج تفاعل الـ PCR اللحظي والكمّي. يبيّن الشكل عدداً من المنحنيات الناتجة عن تضخيم جزيء الدنا نفسه في عينات مَرَضية تحتوي على عدد مختلف من نسخ فيروس الكبد. يمثّل محور السينات عدد دورات التضخيم ويمثّل محور العينات شدة الفلورة الناتجة عن ارتباط الأصبغة المفلورة بالدنا ثنائي الطاق، أما الخط المتقطع فيمثّل الدورات العتبة Cts وهي نقاط تقاطع الخط مع أيّ من المنحنيات. ونرى بوضوح أنه وعلى الرغم من أنّ نهايات التفاعلات في العينات المختلفة تكون متشابهة قليلًا (خاصّة في العينات قليلة التراكيز)، فإن رقم الدورات العتبة يختلف بصورة كبيرة إذ يكون صغيراً في التركيز الأعلى (نحو11) وكبيراً في التركيز الأقل (نحو39). ويمكن رسم منحني عياري (الشكل الصغير في الداخل) يوضّح تناقص الدورات العتبة للعينات مع تزايد عدد نسخ الفيروس.

3.8. تقانة الدنا المأشوب Recombinant DNA Technology

تعتمد تقانة الدنا المأشوب على نوع من الإنزيمات يدعى أنزيمات الاقتطاع (التقييد) Restriction Enzymes التي تُعبِّر عنها الجراثيم، وتستخدمها في تحطيم أي دنا ثنائي الطاق غريب يدخل خلاياها. تتعرّف إنزيمات الاقتطاع على تسلسلات دنا نوعية تدعى بمواقع التعرّف Recognition Sites التي ترتبط بها إنزيمات الاقتطاع وتشطرها بشكل نوعي. على سبيل المثال، يرتبط أحد هذه الإنزيمات ويدعى EcoRI بالتسلسل النوعي GAATTC الذي يُقرأ بشكل متماثل على كل من طاقي الدنا في الاتجاه `5 إلى `3. وإثر ارتباطه بهذا الموقع يقوم الإنزيم بشطر تسلسل الدنا بين النوكليوتيدين الأول والثاني (G وA) في كلا الطاقين مما يسبب تقطيع جزيء الدنا عند هذه النقطة (الشكل 8-6). وتستخدم الجراثيم عدداً من إنزيمات الاقتطاع التي يمتلك كلّ منها موقعاً نوعياً يرتبط به، ويشطر عنده جزيء الدنا ثنائي الطاق.

تقوم تقانة الدنا المأشوب على تأشيب Recombination (أو إعادة ارتباط) جزيئين مختلفين من الدنا مقطوعَيْن بنفس إنزيم الاقتطاع، إذ ينجم عن شطر كلا الجزيئين بالإنزيم نفسه تسلسلات متكاملة يمكنها أن يرتبط بعضها ببعض بشكل متمّم بتواسط الإنزيم الرابط Ligase (الشكل 8-6).



(الشكل 8-6). تأشيب جزيئين مختلفين من الدنا بواسطة إنزيمات الاقتطاع. يقوم إنزيم EcoRI بالتعرف على تسلسله النوعي في كلا طاقي الدنا لجزيئتي دنا مختلفتين لكنهما تحتويان على التسلسل نفسه لموقع تعرف الإنزيم. إثر ذلك، يشطر إنزيم EcoRI طاقي الدنا لكل من الجزيئتين، كل على حدة، ومن ثم يمكن لقطعتي الدنا المشطورتين الناتجين التقارب بعضهما من بعض، ومن ثم الارتباط والالتحام بوجود إنزيم Ligase لينتج عن ذلك قطعتان جديدتان من الدنا المأشوب.

إنّ إحدى التطبيقات المهمة للتأشيب هوإدخال جين محددة في بلاسميد Plasmid أحد الجراثيم عبر شطر تسلسل الدنا المجيني على أطراف الجين نفسها وشطر البلاسميد بنفس إنزيم الاقتطاع في أنبوب الاختبار، ومن ثمّ إعادة إدخال البلاسميد المأشوب الحاوي على الجين المستهدفَة داخل الخلية الجرثومية. وغالباً ما يتم ذلك بهدف تضخيم الجين عبر تضاعف البلاسميد الذي يحصل بشكل طبيعي في الخلية الجرثومية، أو التعبير عن بروتين الجين المستهدفة بعد نسخ الرنا المرسال للجين المتضمّنة داخل البلاسميد وترجمة الرنا المرسال داخل الخلية الجرثومية.

ولا بدّ من الإشارة هنا إلى أنّه يمكن لجزيئات الدنا المشطورة أنزيم الاقتطاع أن تعاود الارتباط بعضها ببعض وبحيث لا ينتج عن ذلك دنا مأشوب. يمكن التغلّب على ذلك باستخدام بلاسميدات تحتوي تتاليَيْن اثنين:

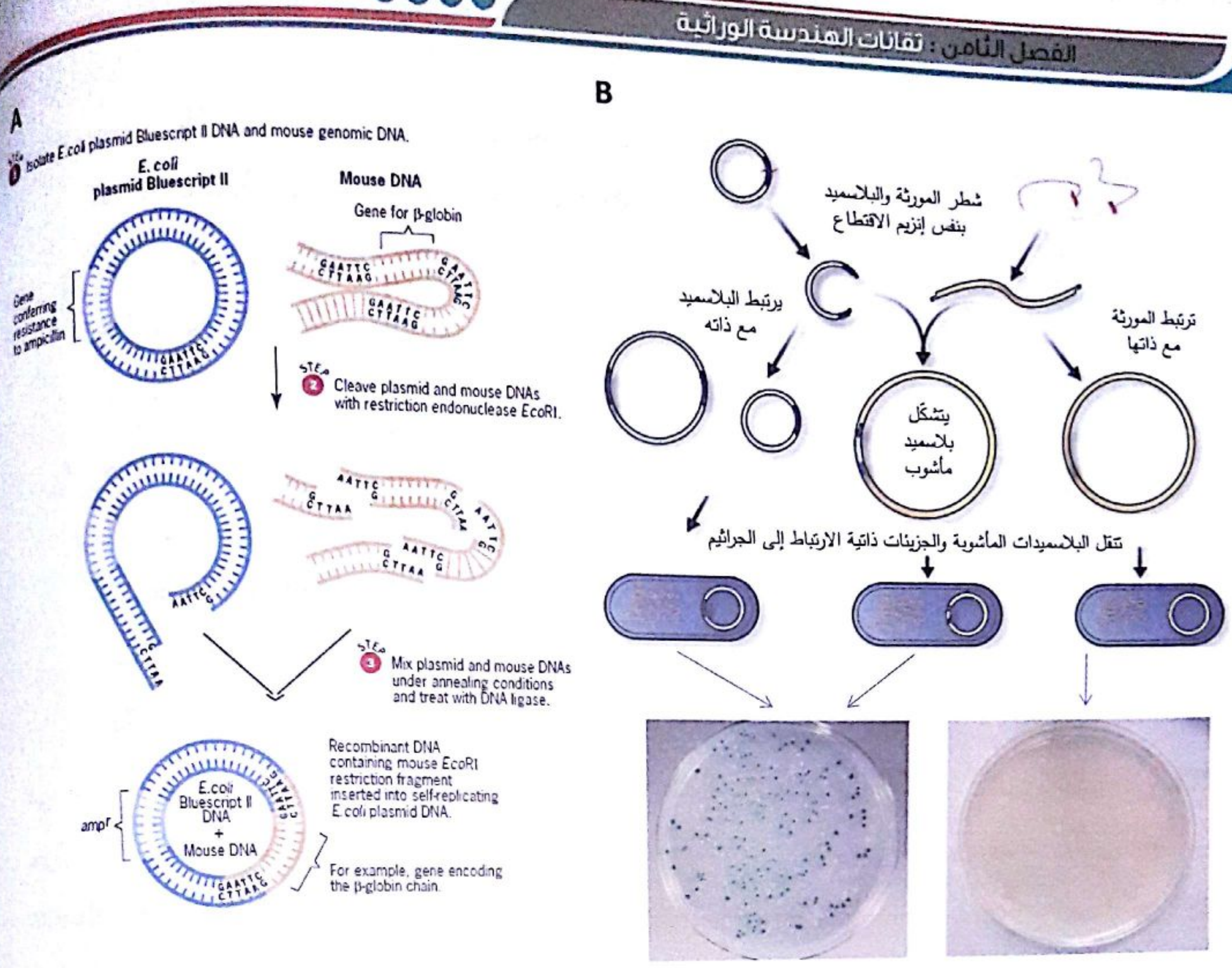


- يرمّز التتالي النوكليوتيدي الأول جين لأحد البروتينات المقاومة لنوع من الصادات الحيوية Antibiotics. ويكون الهدف من هذا التتالي منع نموأي من الجراثيم التي لم يعاد إدخال البلاسميد إلى خلاياها على أوساط نموتحتوي على الصاد الحيوي، حيث تتمكّن فقط الخلايا الجرثومية التي تلقّت البلاسميدات الحاوية على الجين المقاومة من النموعلى تلك الأوساط الزرعية.
- يرمّز التتالي الثاني أحد الإنزيمات التي تتواسط تحويل إحدى الركازات اللونية من الأبيض إلى الأزرق، ويحتوي على مواقع الشطر أنزيم الاقتطاع داخل هذا التتالي. في حال حصل التأشيب، تتداخل الجين المؤشبة في تسلسل الجين المولّد للون، وتكون مستعمرات الجراثيم باللون الأبيض، أما إذا عادت الجين المولدة للون وارتبطت بنفسها دون حصول التأشيب تكون مستعمرات الجراثيم باللون الأزرق (الشكل 8-7).

في الواقع، استخدمت تقانة الدنا المأشوب في نقل الكثير من الجينات البشرية للتعبير عنها في خلايا جرثومية أو خطوط خلوية cell-lines للحشرات والثدييات بهدف إنتاج بروتينات بشرية مأشوبة Recombinant Proteins ذات تطبيقات علاجية أو صناعية أو بحثية. والأمثلة على ذلك عديدة جداً، نذكر منها إنتاج هرمونات الإنسولين Insulin وهرمون النموGrowth Hormone والإرثروبيوتين Erythropoietin المأشوبة، إضافةً للكثير جداً من الإنزيمات المأشوبة ذات الاستخدام الدوائي والصناعي.

4.8. سَلسَلة الدنا DNA Sequencing

يمكن اعتبار سَلسَلة الدنا من التقانات القديمة المتجدّدة. فمنذ سبعينيّات القرن الماضي بزغت هذه التقانة على يد العالم الإنكليزي Frederick Sanger الذي نال جائزة نوبل في الكيمياء عام 1980، وبواسطتها يمكن تحديد جزء من التسلسل النوكليوتيدي للجين، أو كامل تسلسل الجين، أو حتى تسلسل مجين كامل، ومن ثم تكشف ما إذا كان هنالك طفرة أم لا في التسلسل النوكليوتيدي. وبدأت هذه التقانة باستخدام كواشف موسومة شعاعياً، ومن ثم تطورت في ثمانينيات القرن الماضي لتستخدم بدلاً عنها كواشف موسومة بالفلورة، واعتُبِر ذلك تطوراً مهماً نظراً لصعوبات العمل مع المواد المشعة ومخلّفاتها. إلاّ أن التطور الأهم كان فيما يطلق عليه تقانة الجيل التالي للسلسلة Next Generation Sequencing أو NGS التي بزغت في بدايات القرن الحادي والعشرين، واعتمدت على استخدام رقاقات دنا DNA Chips خاصّة سمحت بتوفير الوقت بشكل مذهل.



(الشكل 8-7) : تقانة الدنا المأشوب. A) يستخدم إنزيم EcoRI في شطر كل من جين β-Globin من الدنا المجيني البشري وأحد بلاسميدات جراثيم الإشريكية القولونية E. coli، وينجم عن التأشيب ضم جين β-Globin إلى التسلسل النوكليوتيدي للبلاسميد. B) بعد شطر الجين والبلاسميد بنفس إنزيم الاقتطاع نكون أمام ثلاثة احتمالات؛ الأول إعادة ارتباط الجين بنفسها (يمين) والثاني حصول التأشيب (وسط) والثالث إعادة ارتباط البلاسميد بنفسه (يسار). لدى إدخال نواتج التأشيب الثلاثة إلى الجراثيم نكون أمام ثلاثة احتمالات مرتبطة بالسابقة؛ فالجراثيم التي تلقّت الجين فقط لا تستطيع النموعلى وسط يحتوي أحد الصادات الحيوية بسبب خلوها من البلاسميد الحاوي على جين مقاومة الصاد، والجراثيم التي تلقّت البلاسميد المأشوب تنمو بشكل مستعمرات بيضاء، أما الجراثيم التي تلقّت البلاسميد وحده دون حصول التأشيب فتنمو بشكل مستعمرات زرقاء.

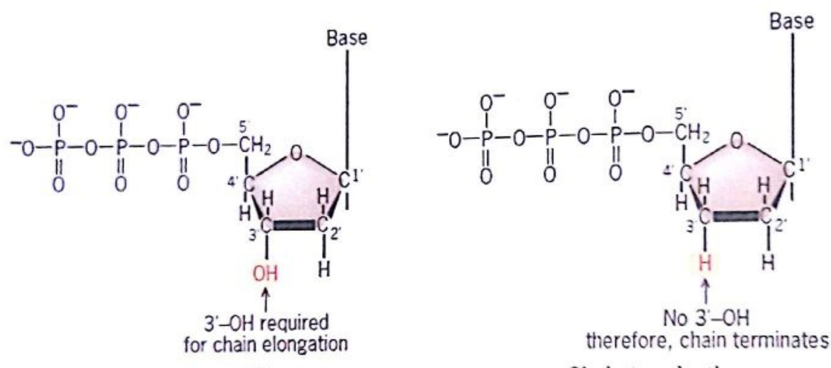
وعلى سبيل المثال، وبينما استغرق تحديد التسلسل النوكليوتيدي لكامل المجين البشري، والبالغ 3 مليارات نوكليوتيد، أوّل مرة نحو13 سنة (1990-2003)، يمكن للجيل التالي للسَلسَلة أن يقوم بذلك اليوم في أقل من أسبوع واحد! ويعزى ذلك أيضاً إلى التقدّم الهائل في تقنيات التهجين والكشف المؤتمتة، إضافةً إلى تطوير البرمجيات المعقدّة التي تحلل الكم الكبير من البيانات الناتجة عن تفاعل السَلسَلة.

يعتمد تفاعل السلسلة على استخدام مُنهيات التفاعل Reaction Terminators (الشكل 8-8) وهي عبارة عن نوكليوتيدات تحتوي ريبوز منقوص الأكسجين لكن أيضاً لا يحتوي هيدروكسيل في الموقع `3 من الريبوز مما يُنهي تفاعل بلمرة الدنا DNA Polymerization بسبب انعدام إمكانية تشكيل الرابطة

الفوسفورية ثنائية الإستر بين النوكليوتيدات في مكان موجود منهيات التفاعل. وسنقتصر هنا على شرح طريقة السَلسَلة الآلية لسانغر Sanger Automated Sequencing (الشكل 8-9).

تعتمد هذه الطريقة، المعدَّلة على سَلسَلة العالم سانغر، على إضافة الكواشف التالية لمرصاف الدنا المراد تحديد تسلسله النوكليوتيدي:

- إنزيم بوليميراز الدنا DNA Polymerase
- كمية زائدة من النوكليوتيدات منقوصة الأكسجين الطبيعية dNTP أنواعها الأربعة (dATP، dCTP،dGTP، dTTP) ، وهي النوكليوتيدات التي يستخدمها إنزيم بوليميراز الدنا عادةً في تصنيع الطاق المتمم للدنا المرصاف.
- كمية قليلة من مُنهيات التفاعل، أي نوكليوتيدات لا تحتوي على هيدروكسيل على أي من الكربونين `2 و`3 لسكر الريبوز تدعى Dideoxy NTPs أو ddNTPs، بأنواعها الأربعة (ddTTP، ddCTP، ddGTP،ddATP) .
- مشرع قصير متمّم للنهاية `3 للدنا المرصاف موسوم بالفلورة Fluorescence، بحيث يمكن الكشف عن جزيئات الدنا بعد تعريضها لشعاع من الليزر.



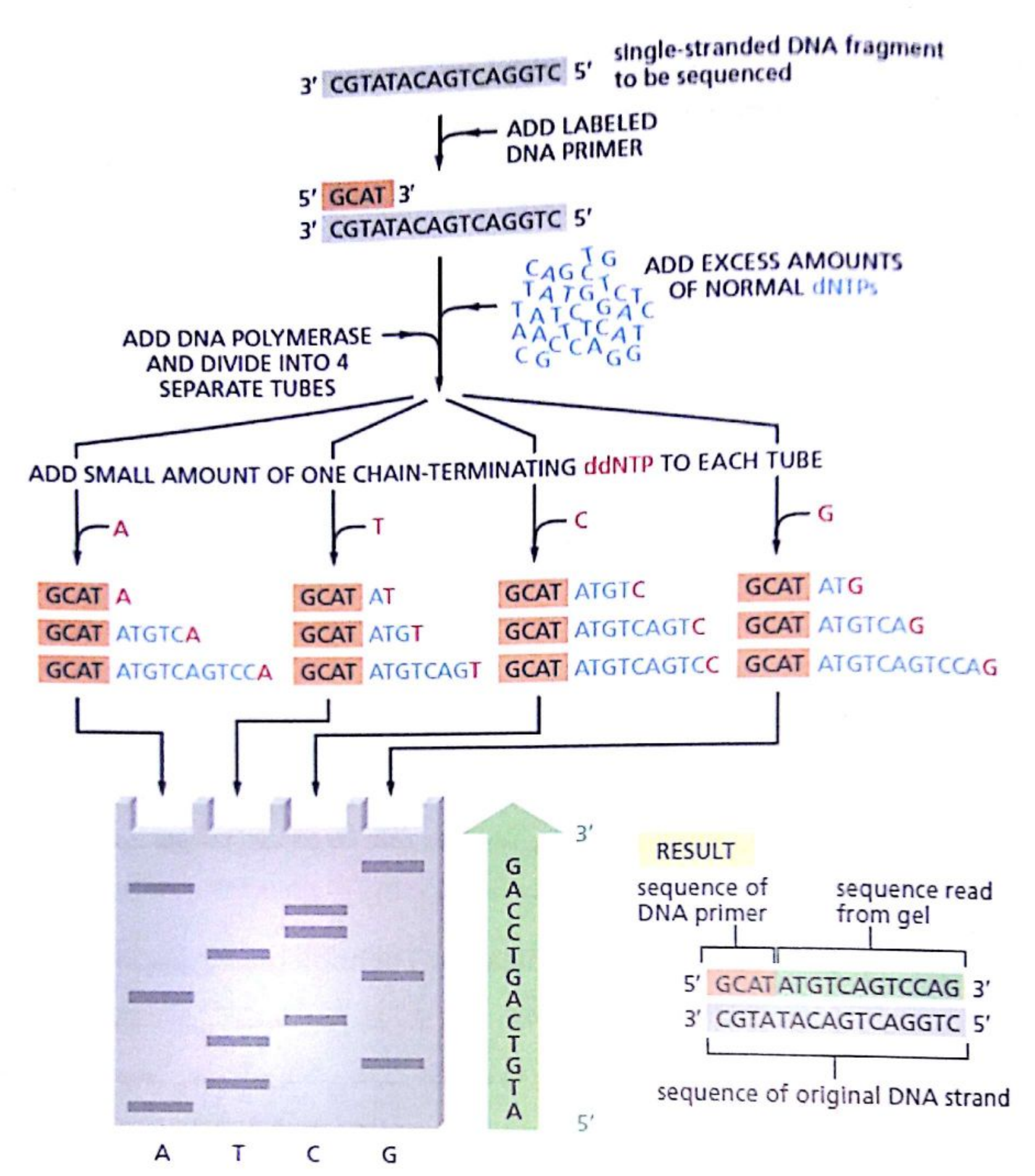
(الشكل 8-8) الفرق بين نوكليوتيد طبيعي للدنا (يسار) ونوكليوتيد منهي للتفاعل (يمين). يحتوي النوكليوتيد الطبيعي على جذر هيدروكسيل في الموقع `3 للريبوز منقوص الأكسجين، بينما يغيب الهيدروكسيل عن النوكليوتيد منهي التفاعل مما يؤدي إلى إيقاف بلمرة الدنا عند موقع ارتباط النوكليوتيد مُنهي التفاعل.

يضاف إنزيم بوليميراز الدنا والنوكليوتيدات الطبيعية والمشرع النوعي إلى جميع الأنابيب الأربعة التي سيتم فيها اصطناع الدنا المتمم لتسلسل –الدنا المرصاف المراد سلسلته، بينما يضاف كل من منهيات التفاعل إلى أحد الأنابيب الأربعة فقط (الشكل 8-9). وأثناء اصطناع الدنا المتمم للدنا المرصاف يحصل تنافس بين النوكليوتيدات الطبيعية dNTPs وبين منهيات التفاعل ddNTPs في كل أنبوب تفوز فيه غالباً النوكليوتيدات الطبيعية بسبب كميتها الزائدة بينما يتوقف التفاعل فقط في كل موقع يرتبط فيه منهي التفاعل النوعي المضاف إلى ذلك الأنبوب تحديداً. وهكذا، ومع اصطناع الدنا المتمم لكامل الدنا المرصاف، تنتج بعض القطع الأقصر من الدنا المتمم بسبب ارتباط منهيات التفاعل في كل مرة وجدت

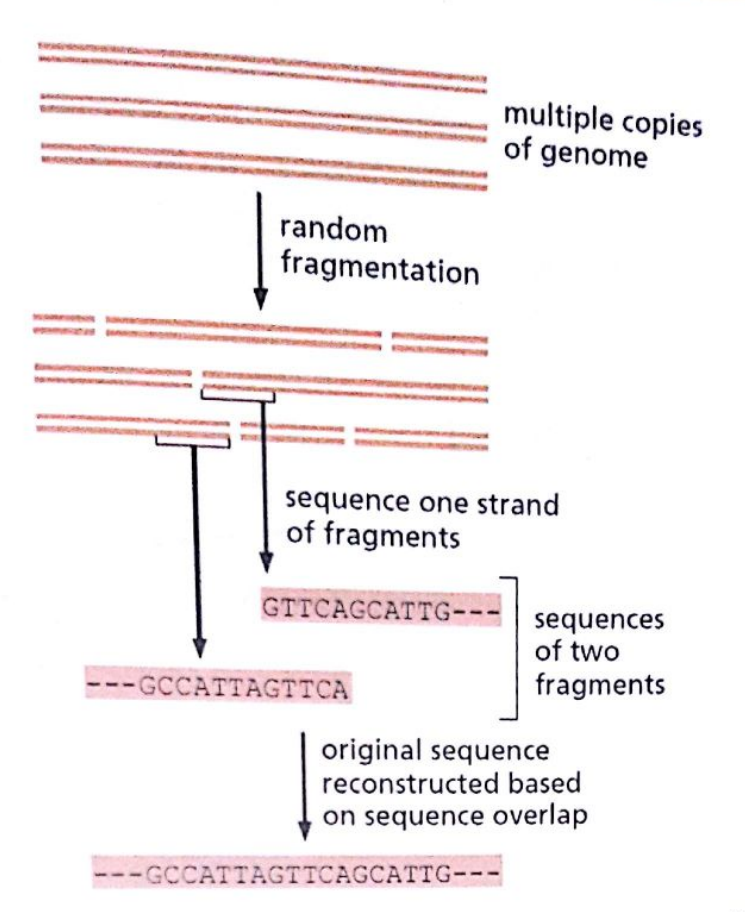
فيها النكلوتيدات المتمّمة لها. على سبيل المثال، نحصل في الأنبوب المضاف إليه ddATP على جزيئات دنا متمّم لكامل الدنا المرصاف إضافةً إلى تسلسلات دنا متمّم أقصر نتجت عن ارتباط ddATP عند كل موقع احتوى فيه الدنا المرصاف على T. وبعد ترحيل نواتج التفاعل في هذا الأنبوب ضمن هلامة الرحلان الكهربائي وسَبْر الهلامة بشعاع من الليزر نحصل في العمود المقابل لكل من الأنابيب الأربعة على جزيئات دنا مفلورة يتناسب حجمها مع توقف التفاعل في موقع ارتباط ddATP، أي موقع وجود النوكليوتيد T في الدنا المرصاف.

وفي النهاية، تُمكِن قراءة هلامة الرحلان بدءاً من القطب الموجب (نهاية الرحلان) باتجاه القطب السالب (بداية الرحلان) في الأنابيب الأربعة ومعرفة التسلسل المتمم للدنا المرصاف واستنتاج التسلسل الأصلي للدنا المرصاف (الشكل 8-9).

مكّنت طريقة سانغر الآلية السابقة من سَلسَلة المجين البشري وكثير من مجائن الكائنات الأخرى. وللقيام بذلك، تمّ شطر دنا المجين البشري إلى قطع صغيرة وتأشيب هذه القطع في البلاسميدات ونقلها إلى الجراثيم. تلا ذلك إجراء سَلسَلة عشوائية Shotgun Sequencing اعتمدت على مشارع نوعية لبعض تسلسلات البلاسميدات القريبة من تتالي القطع المأشوبة داخلها، وبحيث تم تحديد التتالي النوكليوتيدي لعشرات آلاف من تلك القطع المأشوبة، ومن ثمّ أعيد تشكيل تتالي المجين الكامل عبر ترتيب القطع المتداخلة معروفة التسلسل (الشكل 8-10).



(الشكل 8-9) طريقة السلسلة الآلية للعالم سانغر. يضاف إلى الدنا المرصاف كمية زائدة من النوكليوتيدات منقوصة الأكسجين dNTPs ومشرع نوعي موسوم بالفلورة وإنزيم بوليميراز الدنا. ثم يضاف في كل أنبوب كمية قليلة من أحد منهيات التفاعل ddNTPs التي تتنافس مع dNTPs على الارتباط بمواقعها المتممة في جزيء الدنا المرصاف. وفي نهاية التفاعل وإجراء الرحلان الكهربائي، يمكن تمييز ظهور عصابات مفلورة متعددة تتفق مع مواقع ارتباط كل من أنواع ddNTPs الأربعة في كل أنبوب على حدة. وهكذا، نبدأ بقراءة الهلامة من الأسفل إلى الأعلى بدءاً من أصغر قطعة مفلورة، أي من حقل A إلى T إلى G إلى C إلى A إلى G، وهكذا إلى أن ينتهي التسلسل المقروء. يكون هذا التسلسل بالاتجاه `5 إلى `3 للتسلسل المتمم، ومن ثم يكون التسلسل المرصاف هومتمماً له بالتتاليات النوكليوتيدية ومتعاكسا بالقطبية، أي من `3 إلى `5، كما هومبيّن بالأسفل إلى اليمين.



(الشكل 8-10). سلسلة المجين البشري. اعتمدت سلسلة المجين البشري على سلسلة عشوائية Shotgun Sequencing لعشرات الآلاف من قطع المجين ومن ثم ترتيب هذه القطع اعتماداً على التتاليات النوكليوتيدية المشتركة فيما بينها. جرى عبر هذه الطريقة تحديد التتالي لما يزيد على 3 مليارات نوكليوتيد.

5.8. تقانات التهجين Hybridization Technologies

تهدف هذه التقانات إلى الكشف عن جزيئات دنا DNA أو رنا RNA أو بروتين باستعمال كواشف موسومة ترتبط نوعياً بهذه الجزيئات، بحيث تكون مسابير موسومة Labeled Probes في حالتي الدنا والرنا، وأضداداً موسومة في حال البروتينات.

وعلى الرغم من اختلافها أنواع الكواشف المستخدمة وطرق التحرّي، تجتمع تقانات التهجين على مبدأ ارتباط جزيئتَيْ دنا متكاملتين في التتالي النوكليوتيدي بعضهما مع بعض، إذ يقابل الأدنين الثيمين ويقابل السيتوزين الغوانين في كامل التسلسل النوكليوتيدي، أو ارتباط ضد Antibody مع مستضد Antigen، وهوما يدعى بالتهجين Hybridization. وتبرز هنا أهميّة إلفة الارتباط Binding Affinity بين الجزيئتين، الذي يرتبط بشكل مباشر مع درجة التتام النوكليوتيدي بين التسلسلين أو بين الضد والمستضد، وعلى تطبيق شروط غسل قاسية للتخفيف من الارتباطات غير النوعية بين الجزيئات ضعيفة الإلفة وغير المتتامة بشكل كلّي في تسلسلاتها النوكليوتيدية.

وسنتحدّث في هذا السياق عن أهم هذه التقانات كتقانات التبقيع Blotting وتقانة المصفوفات الدقيقة Microarrays، وتقانة التهجين في الموضع in situ Hybridization أو ISH، وندع للقارئ الاطلاع على تقانات أخرى عديدة مشتقّة منها.

1.5.8. تقانات التبقيع Blotting Technologies

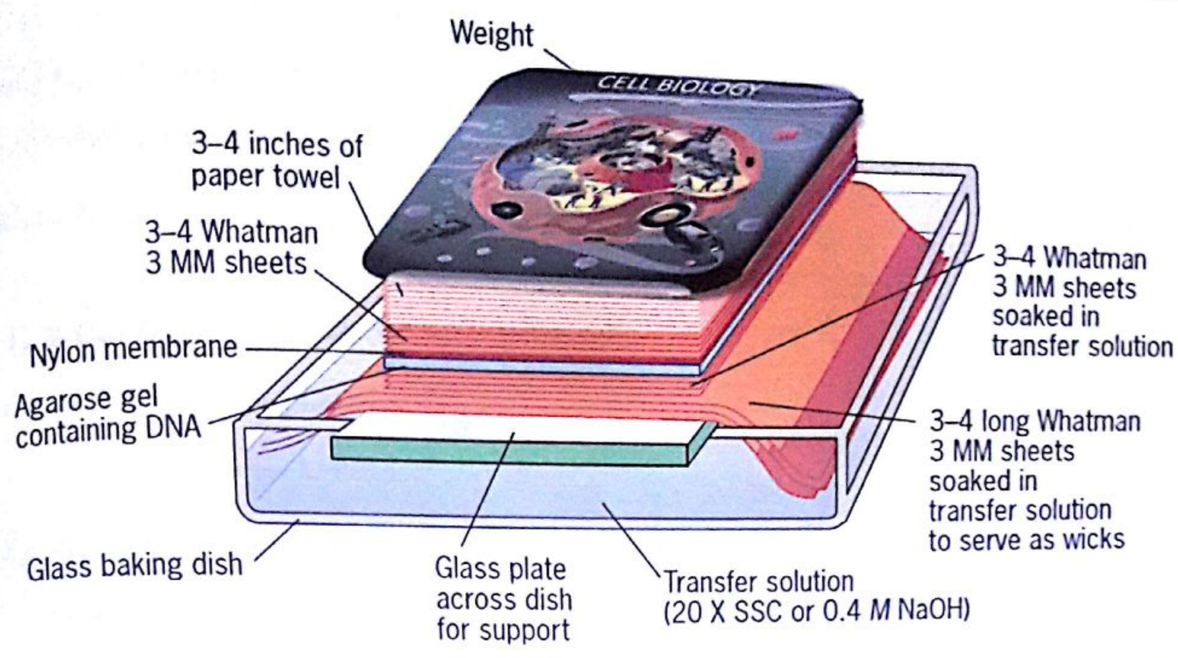
تشترك جميع تقانات التبقيع بالخطوات التالية:

1. فصل الجزيئات المراد الكشف عنها بالرحلان الكهربائي في الهلام Gel Electrophoresis.
2. نقل الجزيئات من الهلامة إلى غشاء من النايلون أو السللوز ترتبط به الجزيئات، كلّ بحسب موقعه في الهلامة وهوالخطوة الأساسية في التبقيع، إذ يترك بذلك كل جزيء بصمة في الغشاء بموقع مقابل تماماً لرحلته باتجاه القطب السالب.
3. تهجين غشاء النايلون أو السللوز مع كواشف نوعية موسومة للجزيء أو التتالي المراد الكشف عنه.
4. الكشف عن إيجابية التهجين عن طريق مكشافات Detectors تتحرّى إشارة الوسم في الغشاء.

وللتبقيع ثلاثة أنواع تدعى بأسماء لا تخلومن الطرفة. سمّيت التقانة الأولى بتبقيع ساوثرن Southern Blotting التي أسسها العالم Ed Sounthern لكشف جزيئات الدنا وأخذت اسمه. بعد سنتين أسس العالم Alwine تقانة أخرى للتحري عن الرنا، وسماها تبقيع نورثرن Northern Blotting، وبعد عدة سنوات أسس الباحث Burnette طريقة مماثلة لكشف البروتين أسماها تبقيع ويسترن Western Blotting مشيراً بذلك إلى التقانتين السابقتين وإلى مخبره الذي يقع في مدينة سياتل غرب الولايات المتحدة الأمريكية.

1.1.5.8. تبقيع ساوثرن Southern Blotting

كما أشير أعلاه، تختص هذه التقانة بالكشف عن جزيئات دنا نوعية عبر تهجينها بمسابير نوعية موسومة ومتممة لها بالتسلسلات النوكليوتيدية. لاحقاً لإجراء الرحلان الكهربائي على الأغاروز لجزيئات الدنا المشطورة جزئياً أنزيمات الاقتطاع Restriction Enzymes، يمكن نقل جزيئات الدنا من هلامة الرحلان إلى الغشاء عبر وضع الغشاء فوق وبشكل ملاصق تماماً للهلامة ووضع عدد من أوراق الترشيح تحت الهلامة، بشكل تسحب وقاء التبقيع الموجود في الحوض بالخاصة الشعرية وتنقل جزيئات الدنا، كل بحسب موقعه، إلى غشاء النايلون الذي يوجد فوقه أوراق ترشيح أخرى عديدة تزيد من سحب الوقاء وتثبيت الدنا على الغشاء. وأخيراً يوضع فوق جميع الأجزاء ثقل لتثبيت كامل منظومة التبقيع (الشكل 8-11).



(الشكل 8-11). منظومة تبقيع ساوثرن. تتألف المنظومة من وعاء يحتوي على وقاء ترتكز فيه الهلامة على صفيحة زجاجية فوقها أوراق ترشيح كبيرة تصل إلى الوقاء وتمتصه وتمرّره إلى الهلامة فوقها ومن ثم إلى غشاء التبقيع. توجد فوق غشاء التبقيع أوراق ترشيح أخرى ومحارم ورقية تساعد على امتصاص وقاء التبقيع من الأسفل إلى الأعلى عبر الهلامة والغشاء مما يساهم في نقل جزيئات الدنا إلى الغشاء والتصاقها به وفي الأعلى ثقل يهدف إلى تثبيت كامل أجزاء المنظومة كي لا تسقط.

بعد الانتهاء من نقل الدنا إلى غشاء النايلون يتم حضن الغشاء مع مسبار دنا DNA Probe موسوم (قطعة دنا موسوم شبيهة بالمشارع لكنها أكبر حجماً) ونوعي للتسلسل المراد الكشف عنه ومن ثم يتم غسل الغشاء بمحاليل مختلفة التراكيز للتخلص من الارتباطات غير النوعية للمسبار على الغشاء، وأخيراً يُعرّض الغشاء إلى مكشاف لتحرّي إشارة الوسم وتحديد موقع الدنا المرتبط بالمسبار. تمكّن هذه التقانة من تحرّي الطفرات في الدنا باستخدام مسابير متمّمة للتسلسل الطافر ترتبط فقط به، ولا ترتبط بالتسلسل الأصلي غير الطافر. كما يمكن الكشف عن عدد نسخ الجين الناتج عن شذوذات وراثية تسبب تضاعفاً للجين ووجود عدة نسخ منها ضمن المجين الواحد (الشكل 8-12).

2.1.5.8. تبقيع نورثرن Northern Blotting

يشبه تبقيع نورثرن تبقيع ساوثرن من حيث المبدأ، ويختلف عنه فقط في أن الجزيئات المتحرّى عنها هي جزيئات رنا. ويتم ترحيل الرنا على هلامة الأغاروز ونقل جزيئاته إلى غشاء النايلون، ومن ثم تهجين الغشاء مع مسابير من الدنا موسومة ونوعية لجزيء الرنا المراد الكشف عنه.

ولهذه التقانة تطبيقات مهمة في مقارنة مستوى التعبير الجيني بين الخلايا لجين يكثر أو يقل التعبير عنها في شروط معيّنة (الخلايا نفسها قبل وبعد الحضن مع محفّز معيّن) أو خلايا مختلفة (خلايا طبيعية أو سرطانية) (الشكل 8-12).

3.1.5.8. تبقيع ويسترن Western Blotting

يختلف تبقيع ويسترن عن التبقيعين السابقين بالأمور الأساسية التالية:

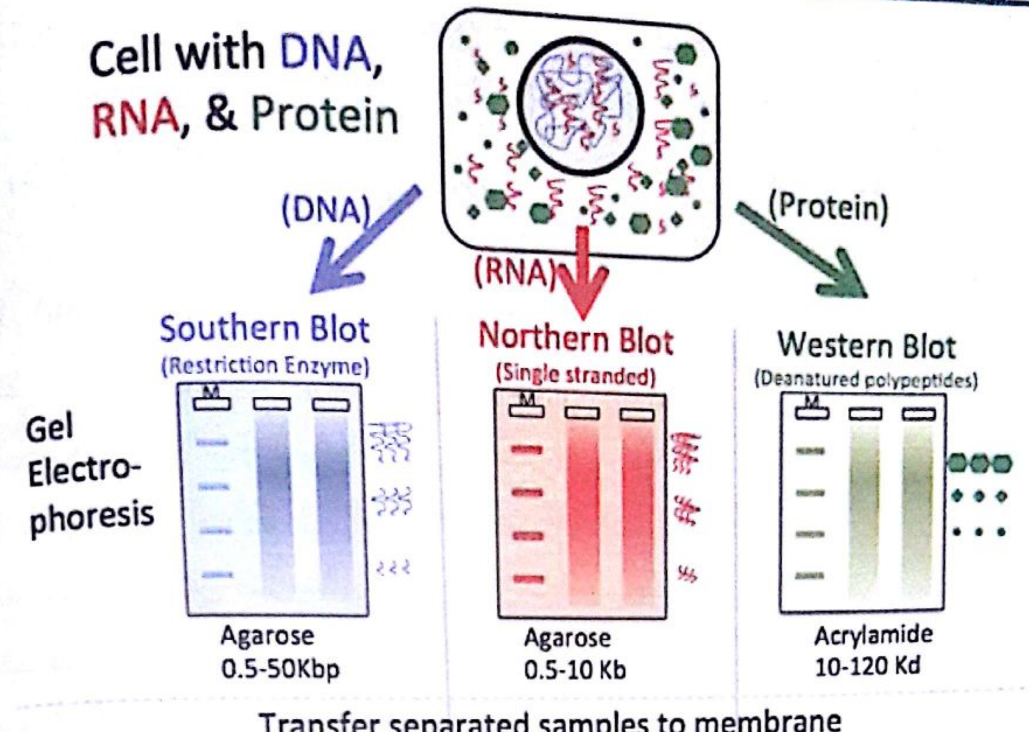
- يجري في تبقيع ويسترن ترحيل للبروتينات على هلامة أكريل أميد، إذ ترحل البروتينات وفقاً لشحنتها ووزنها الجزيئي إلى القطب الموجب للرحلان.
- يستخدم غشاء من النتروسللوز وليس من النايلون، حيث يحقق الأول قدرة ربط عالية للبروتينات المنتقلة من هلامة الرحلان إلى الغشاء.
- يجري التبقيع بالاستعانة بتيار كهربائي لنقل البروتينات من الهلامة إلى الغشاء وتثبيت البروتينات عليه، وتستخدم منظومة مختلفة عن تلك التي ذكرت في نوعي التبقيع الآخرين.
- لا يستخدم تبقيع ويسترن أي مسابير موسومة بل يجري التهجين باستخدام أضداد بروتينية موسومة ترتبط بشكل نوعي وإلفة عالية بالمستضد البروتيني المثبّت على الغشاء وتكشف عن وجوده.

يُستخدم تبقيع ويسترن للكشف عن وجود البروتينات في خلاصات خلايا أو نسج معيّنة كما يمكنه الكشف عن فعالية هذا البروتين في حال استخدمت أضداد نوعية فقط للبروتين الفعال ولا ترتبط بالبروتين غير الفعال (الشكل 8-12).

2.5.8. التهجين التألقي في الموضع Fluorescent *in situ* Hybridization (FISH)

يمثّل التهجين في الموضع *in situ* Hybridization (ISH) تقانة متميزة تتداخل من خلالها التقانات الحيوية الجزيئية والنسيجية لدراسة التركيب والتعبير الجيني في مقاطع النسج والمحضّرات الخلوية، ويمكن بواسطتها تحديد مواقع نوعية للدنا DNA والرنا RNA في نوى الخلايا. تتضمّن الطريقة تفاعل تهجين بين مسبار نوكليوتيدي موسوم وتتالي نوكليوتيدي هدف متمم له. ويمكن تحرّي الهجن Hybrids إمّا بالتصوير الشعاعي الذاتي للمسابير الموسومة شعاعياً، وإما عن طريق استخدام ملوّنات نسيجية كيميائية للمسابير غير المشعّة. وتطوّرت لاحقاً تقنيات ISH بشكل سريع في منتصف ثمانينات القرن الماضي لتصبح وسائلَ لا غنىً عنها في البحث العلمي الأساسي والتشخيص السريري، خاصّةً بعد أن مكّن إدراج الوسم التالقي غير الشعاعي في نهاية السبعينات من استخدام التهجين التألقي في الموضع Fluorescent *in situ* Hybridization أو FISH في مخابر التشريح المرضي كوسيلة تشخيصية جزيئية وطريقة للكشف عن العوامل الممرضة كالجراثيم والفيروسات في المقاطع النسيجية.





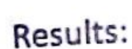
Probe Mem-brane:

Single stranded complementary DNA or RNA to specific sequence (restriction fragment)

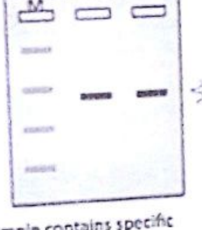
Single stranded complementary DNA or RNA to specific sequence (transcript)

Primary antibody to specific polypeptide Use Secondary antibody to detect/amplify primary

Detect labeled probe on membrane

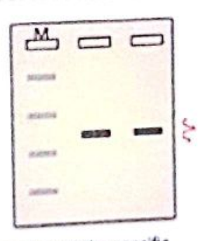


Results:



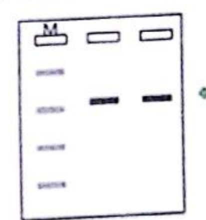
Sample contains specific DNA restriction fragment

Can measure fragment size and amount (single vs. repeated)



Sample contains specific RNA transcript (e.g. mRNA)

Can measure fragment size and amount (level of expression)



Sample contains specific Polypeptide

Can measure polypeptide size and amount (level of expression)

(الشكل 8-12). مقارنة بين تقانات التبقيع الثلاث. (يسار) يعتمد تبقيع ساوثرن على رحلان دنا مجيني مشطور أنزيمات الاقتطاع في هلامة الأغاروز وتبقيع الهلامة على غشاء ووسم الغشاء بمسابير دنا أو رنا موسومة نوعية لتسلسل الدنا المستهدف. (وسط) يعتمد تبقيع نورثرن على رحلان جزيئات الرنا المستخلصة من نسيج معيّن في هلامة الأغاروز ووسم الغشاء بعد تبقيع الرنا عليه بمسابير دنا أو رنا موسومة نوعية لتسلسل الرنا المستهدف. (يمين) يعتمد تبقيع ويسترن على رحلان البروتينات في هلامة البولي أكريل أميد وتبقيع البروتين على غشاء نتروسللوز ومن ثم وسم الغشاء بأضداد نوعية للبروتين المستهدف.

تعدّ الـ FISH من حيث المبدأ تقانة مباشرة جداً تتضمّن تهجين مسبار مفلور Fluorescent Probe من الدنا مع تسلسله المتمم على مستحضرات الصبغيات المثبّتة مسبقاً على صفائح زجاجية. تُظهِرُ المسابر المفلورة وجزيئاتها الهدف في الموضع باستخدام المجهر المفلور وعادةً ما تكون إشارة الوسم

المباشر أكثر قوة ونوعية. وباعتبارها تطبيقاً جزيئياً وخلوياً مشتركاً، فإن الميزة الأساسية والمحبّبة لتقنية FISH تكمن في قدرتها المتميزة لتزويدنا بدرجة عالية من المَيَز Resolution، مع الاحتفاظ بالمعلومات على مستوى الخلية الواحدة. ويمكن أن تطبّق تقنية FISH في مختلف أطوار دورة الخلية Cell Cycle والاستفادة من المعلومات الناتجة عنها حسب نوع وغاية التحليل، وذلك مع الإشارة إلى أن بنية الصبغي تتغيّر بتغير طور الخلية، إذ تكون المادة الوراثية مسترخية وأقل تكثّفاً في بداية الطور البيني interphase وخلال الطور G1، بينما تشرع بالتكثف في الطور G2 لتصل إلى أقصى درجات التكثّف في بداية طور الانقسام M.

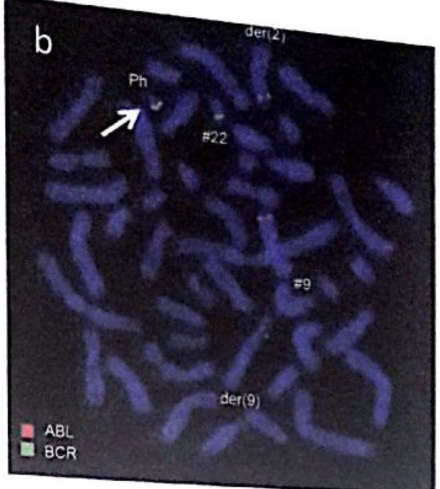
بزغت تقنية الـ FISH عبر مزاوجة تهجين الدنا التقليدي في المحلول مع التقنيات الجزيئية الحديثة. واستخدمت FISH في كثيرٍ من المجالات مثل تحديد نوع الصبغي، وتظهير تضخيم (تضاعف) الجين الشاذ في بعض الأورام الصلبة، وتحديد الخلايا الورمية ضمن النسيج الطبيعي.

تتوافر ثلاثة أنماط رئيسية من مسابير الـ FISH:

1. المسابر السائِلة Satellites Probes، وترتبط بتسلسلات الدنا عالية التكرار قرب منطقة القُسيم المركزي Centromere للصبغي.
2. مسابر التتاليات النوعية Unique–Sequence Probes، وتتحرّى تتاليات نوعية من الدنا في أي موضع على طول الصبغيات وتترافق مع بعض الأمراض.
3. مسابر الرسم Painting Probes، وترتبط مع سلاسل كبيرة من التتاليات الموجودة في صبغي محدّد بحيث تصبغ صبغي معيّن بلون فلورة خاص يميّز هذا الصبغي من الصبغيات الأخرى.

إنّ من بين أكثر تطبيقات الـ FISH شيوعاً هو الإزفاء Translocation بين الصبغيين 9 و22 t(9,22)، أو ما يدعى بصبغي فيلادلفيا Philadelphia Chromosome، الشائع لدى بعض مرضى ابيضاض الدم الحاد Acute Leukemia. يستخدم مسباران نوعيّان لتحري ناتج اندماج جينتي *BCR* و*ABL* نتيجة الإزفاء الصبغي، يرتبط الأول بجزء من جين *BCR* المتوضعة على الصبغي 22 والثاني بجزء من جين *ABL* المتوضعة على الصبغي 9. وتمتلك الخلية الطبيعية إشارتين من الصبغي 9 وإشارتين من الصبغي 22 نتيجة وجود أليلين لكل جين على صبغيي الأب والأم، بينما تُظهِرُ الخلايا التي حصل فيها إزفاء t(9,22) إما إشارتين متجاورتين بألوان فلورة مختلفة، وإما إشارة مدمجة بلون متوسط بين اللونين. وهكذا، إذا كان مسبار *BCR* موسوماً بمادة الفلوروسيئين الخضراء ومسبار *ABL* موسوماً بمادّة الرودامين الحمراء، تظهر عندها إشارة صفراء تعكس اندماج اللونين المفلورين. وعادةً ما تستعمل صبغة أخرى عامّة هي DAPI التي تلوّن النواة أو الصبغيات ككل، وتجعل الصورة أكثر وضوحاً (الشكل 8-13).





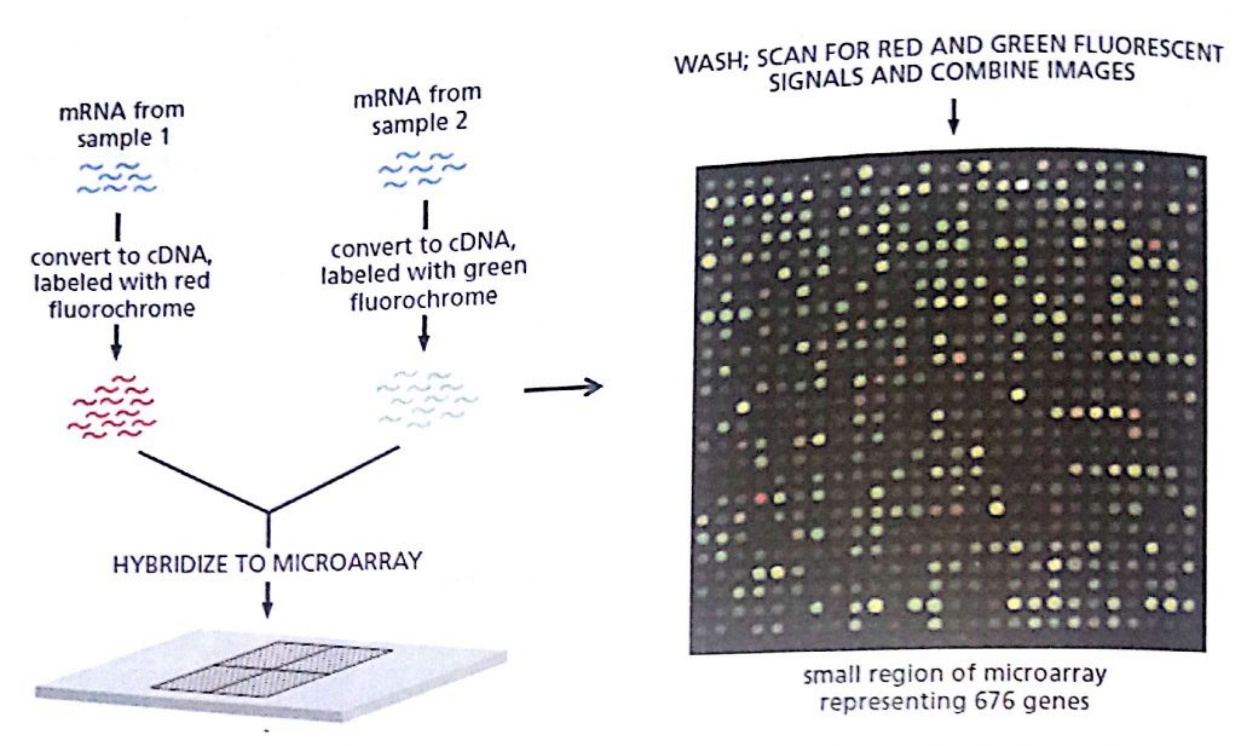
(الشكل 8-13). ويبيّن تطبيق تقانة FISH في خلايا جسدية لمريض ابيضاض دم لمفاوي باستخدام مسبارين نوعيين لجينتي *BCR* (خضراء) و*ABL* (حمراء) في خلايا دم في الطور البيني Interphase (a) وطور الانقسام mitosis (b)، على التوالي. (a إلى اليسار) خلية طبيعية تحتوي على نسختين من جين *ABL* على الصبغيين المتماثلين 9 ونسختين من جين *BCR* على الصبغيين المتماثلين 22. (a إلى اليمين) خليتان ورميتان تحتوي كل منهما على تداخل بين اللونين، يبدو باللون الأصفر (السهمين)، ناجم عن إزفاء t(9,22) وتشكّل الجين المولدة للورم *BCR–ABL*. (b) صبغي فيلادلفيا (السهم) ويظهر عنده اندماج الفلورة الخضراء والحمراء عند الجين *BCR–ABL*.

3.5.8. المصفوفات الصغريّة Microarrays

ظهرت في العقدين الأخيرين المصفوفات الصغريّة Microarrays كتقانة عالية النتاج High Throughput تُمكّن من مقايسة التعبير الجيني لعدد كبير جداً من الجينات يصل إلى عدّة آلاف في الآن نفسه. يعتمد أحد تنوّعات هذه التقانة على ربط كثير من شدف الدنا الخاصة بقطع من جينات مختلفة على صفائح زجاجية، وبشكل بقع صِغَريّة Micro-Spots، ومن ثم تهجينها مع عينات مختلفة وموسومة من الدنا المتمم للرنا المرسال المستخلص من العيّنة المدروسة، ويلي ذلك إجراء قياس كمي لشدّة الإشارة الصادرة عن جميع الشدف بما يعكس كمية الرنا المرتبطة بالتسلسلات المتمّمة لها والخاصّة بكل جين منها.

وهكذا، يمكن تحديد التعبير الجيني للجينات المرتبطة بأحد أنواع السرطانات في عينة مريض من خلال وسم الدنا المتمم cDNA للرنا المرسال المستخلص من هذه العينة بواسم فلورة معين واستخدام cDNA متمّم لرنا عياري (من شخص سليم) مرتبط بواسم فلورة آخر. يتبع ذلك تهجين عينتي الدنا المتمّم في نفس الوقت مع الصفيحة الحاوية على شدف الجينات المثبّتة عليها، وبحيث ترتبط شدف الدنا المتمّم الموسوم بشكل تنافسي مع بقع الدنا. يتم بعدها تحديد التعبير الجيني التفاضلي Differential Gene Expression لجينات معينة بعد تحديد كمية الواسمات المرتبطة في كل بقعةٍ على الصفيحة، التي تمثّل إحدى تلك الجينات (الشكل 8-14). تجري اليوم دراسة التبدلات في التعبير الجيني لعدد كبير من الجينات وربط ذلك مع أمراض عديدة ومتنوعة كالسرطانات والمتلازمات المختلفة. وأخيراً، تجدر الإشارة

أن تقانة المصفوفات الصغريّة قد توسعت حديثاً لتشمل مصفوفات البروتينات Protein Arrays ومصفوفات النسج Tissue Arrays إذ تختلف هذه التقانات بعضها عن بعض بنوع العينة المرتبطة بالصفائح وبنوع الكواشف المستخدمة، التي عادة ما تكون أضداداً موسومةً.



(الشكل 8-14). مصفوفة دنا مكروية تبيّن اختلاف التعبير الجيني للجينات الممثّلة على الصفيحة. يتم وسم الدنا المتمّم cDNA لعينتين من الرنا المرسال (مثلا عينة عيارية 1 بواسم أخضر وعينة مريض 2 بواسم أحمر). تمثّل النقاط الحمراء (إلى اليمين) توضّع الجينات ذات التعبير المرتفع في عينة المريض بينما تمثّل النقاط الخضراء تلك التي قلّ التعبير عنها في عينة المريض. تمثّل النقاط الصفراء الجينات التي لم يختلف التعبير عنها بين عينة المريض والعينة العيارية.

6.8. التشخيص الجزيئي للأمراض الوراثية

Molecular Diagnosis of Genetic Diseases

يشير مصطلح التشخيص الجزيئي Molecular Diagnostics إلى الاختبارات التي تستخدم لتحديد مرض، أو الأهبة للمرض، عن طريق تحليل الدنا DNA أو الرنا RNA أو البروتين. ويضمّ هذا المجال الاختبارات والأجهزة والكواشف المستخدمة في المستشفيات ومخابر التحاليل والمخابر المرجعية ومراكز الأبحاث بهدف تشخيص ومتابعة سير المرض. وقد تطور التشخيص الجزيئي الطبي بشكل كبير في العقد الماضي، وأضحى من المجالات الأكثر نمواً من إذ حجم الاستثمارات وفرص التوظيف. وبشكل جلي، فقد أتى هذا الازدهار نتيجة المعرفة المتراكمة في العقدين الماضيَيْن والمتعلّقة بالمجين البشري والجينات والبروتينات، التي شكّلت أساس دراسة الأمراض على المستوى الجزيئي. وتطلّب تطوير

التشخيص الجزيئي تآزراً بين أخصائيي البيولوجيا الجزيئية والكيمياء التحليلية والمعلوماتية الحيوية والهندسة الطبية لفهم الآليات الجزيئية وترجمة هذا المعرفة إلى اختبارت تطبيقية ملائمة ومفيدة.

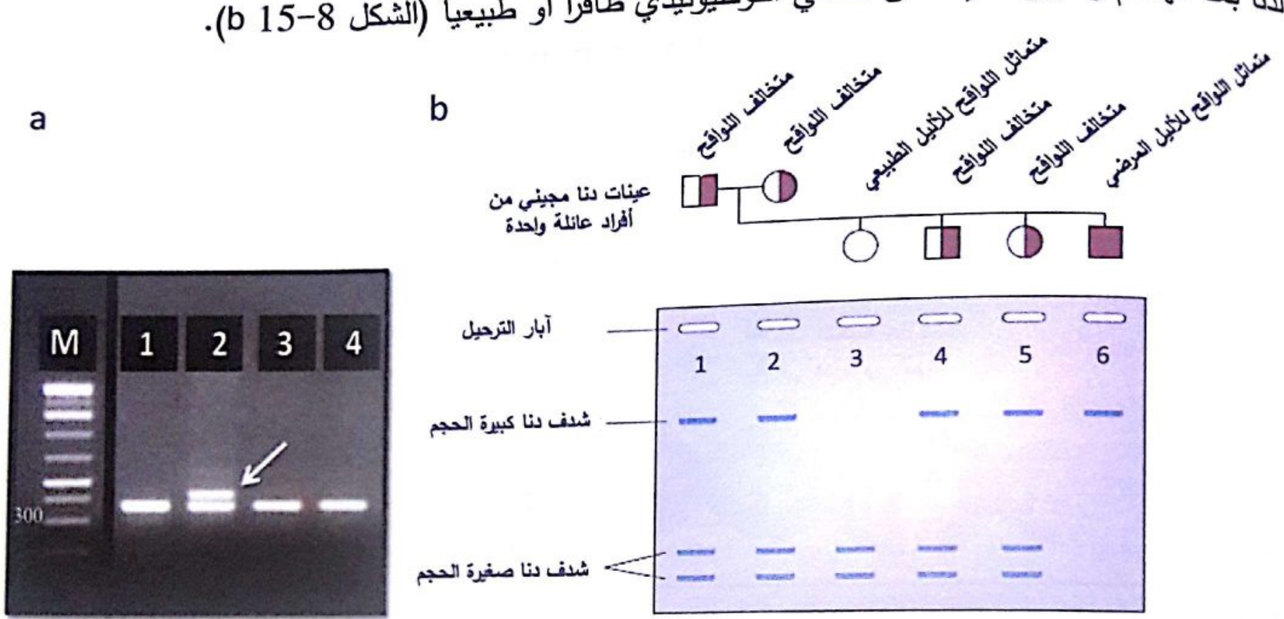
يعتمد تشخيص الأمراض الوراثية على حزمة من الوسائل المتكاملة تبدأ بالقصة العائلية والموجودات السريرية لدى المرضى، وتمر ببعض الفحوص المخبرية الأولية التي تكشف عن الاضطراب الحاصل في الواسمات الحيوية Biomarkers (الجزيئات التي ترتفع أو تنخفض تراكيزها في الدم أو النسج) المرافقة للخلل الوظيفي وتقدير الفعالية الإنزيمية النوعية للمرض، انتهاءً بالتشخيص الجزيئي الذي قد يسهم في تحديد آليات المرض. ويضمّ هذا الأخير تحاليل متغايرة كالنمط النووي Karyotyping للصبغيات والوسائل المتعدّدة لكشف الطفرات والتطبيقات المختلفة لتضخيم الدنا DNA amplification بتفاعل البوليميراز التسلسلي التقليدي أو اللّحظي. ويبدو التشخيص الجزيئي أكثر تلك الوسائل حساسيةً لكشف الأمراض الوراثية، ويمكّن بذلك من الكشف المبكّر عن الخلل الجزيئي، مما يسهم باتخاذ القرار العلاجي السليم ربما قبل ظهور الأعراض السريرية لدى المرضى. تضم الشذوذات الجزيئية التي يمكن الكشف عنها بوسائل التشخيص الجزيئي كل أنواع الطفرات Mutations والتعدد الشكلي وحيد النوكليوتيد Single Nucleotide Polymorphisms أو SNPs إضافةً إلى الشذوذات الصبغية (أنظر الفصلين التاسع والعاشر).

يمكن عموماً تحرّي وجود الطفرات عبر تقانة السَلسَلة وتقانات التهجين المختلفة. وقد سيطرت منذ منتصف القرن الماضي تقانات قديمة من أمثالها تبقيع ساوثرن وتبقيع نورثرن لكشف الطفرات ومقايسة التعبير الجيني، إلا أن كلتا التقانتين تستهلك وقتاً وجهداً طويلَيْن، واستبدلتا حديثاً بكثير من التقنيات العصرية المتطورة. وسنتطرق هنا إلى أشهر تلك التقانات الجزيئية المعاصرة Modern Molecular Technologies التي ساهمت في تطوّر حقل التشخيص الجزيئي منذ أواخر القرن العشرين حتى الآن، وعلى الأخصّ في كشف وتحديد نوع الطفرات في كثير من الأمراض الوراثية وتمييز حالات تماثل وتخالف اللواقح.

1.6.8. كشف وجود الطفرات عن طريق المعاملة الإنزيمية لنواتج تفاعل الـ PCR

إنّ من أهمّ التطبيقات المباشرة لتفاعل الـ PCR هوتمييز التغيّر في طول نواتج التفاعل نتيجة طفرات الإقحام Insertion أو الخبن Deletion، إذ تبدو قطع الدنا المضخّمة إما أقصر أو أطول من الطول المتوقع لشدفة الدنا (الشكل 8-15 a). إلا أنّ هذا التطبيق يكون غالباً ذا فائدة فقط إذا كان عدد النوكليوتيدات المضافة أو المحذوفة كبيراً، خاصّة عند استخدام هلامة الآغاروز ضعيفة الفصل أو المَيز في الرحلان الكهربائي. ولأجل ذلك، أدخل لاحقاً تعديل مهم باستخدام إنزيمات القطع التي تشطر الدنا عند مواقع تعرّف نوعية (أنظر أعلاه) مما ينتج عنه عدد من شدف الدنا تساوي عدد مواقع التعرّف زائداً واحداً. على سبيل المثال، إذا كان هنالك موقع تعرّف واحد في ناتج الـ PCR تنتج شدفتان للدنا، وهكذا.

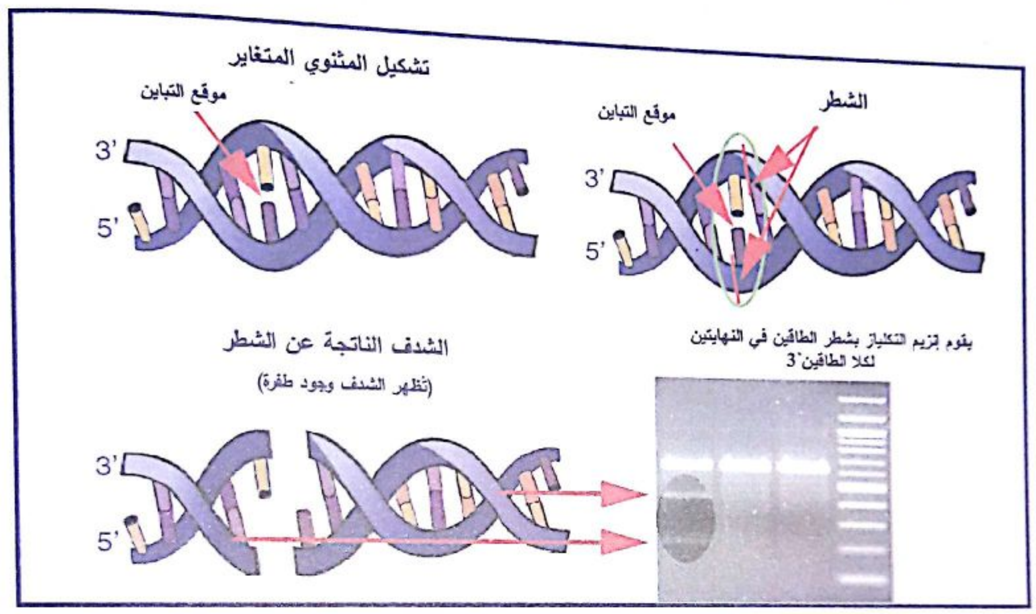
وتؤدّي بعض طفرات الدنا إلى إلغاء موقع التعرّف أو إلى إضافة موقع تعرّف جديد مما ينجم عنه اختلاف في قدرة إنزيم التقييد على قطع تسلسل الدنا التابع لعينة سليمة ومرضية. ونميّز هنا حالتي متماثل ومتخالف الألائل Homo– or Heterozygote، إذ يمكن تفريق تلك الحالتين بعضهما عن بعض أولاً بتضخيم تسلسل الدنا المراد اختباره بواسطة تفاعل الـ PCR، ومن ثم هضم قطعة الدنا المُضخَّمة أنزيم اقتطاع نوعي لموقع التعرّف المتضمّن مكان وجود الطفرة المحتملة، ثم ترحيل عينات الدنا بعد الهضم وتمييز ما إذا كان التتالي النوكليوتيدي طافراً أو طبيعياً (الشكل 8–15 b).



(الشكل 8–15). ويبيّن بعض تطبيقات تفاعل الـ PCR في الكشف عن الطفرات. a) صورة رحلان كهربائي لنواتج تفاعل PCR مباشر لثلاثة مرضى (1–3) من مرضى ابيضاض دم حاد بالمقارنة مع عينة لفرد سليم (4). تُظهر نتيجة الرحلان الكهربائي وجود عصابة واحدة في العينات 1 و3 و4، وعصابتين لدى عينة مريض (2) بسبب وجود طفرة إضافة Insertion Mutation في أحد أليلي الجين الطافرة لدى المريض. b) رسم تخطيطي لرحلان كهربائي لنواتج تفاعل PCR بعد هضم القطع المضخَّمة بأحد إنزيمات القطع الذي يتأثر عمله بوجود طفرة في تتالي موقع التعرّف النوعي له. وتظهر في الأعمدة (1،2،4،5) نواتج تعكس حالة متخالف الألائل (اللواقح) لدى أفراد العائلة، حيث تمكّن إنزيم القطع من قطع تسلسل الأليل الطبيعي منتجاً الشدف صغيرة الحجم، بينما لم يتمكّن من قطع تسلسل الأليل الطافر بسبب وجود الطفرة التي ألغت موقع التعرّف. وتظهر في العمود 3 حالة متماثل الألائل الطبيعية، بينما تظهر في العمود 6 حالة متماثل الألائل المَرَضية.

يمكن أيضاً استخدام إنزيمات أخرى غير نوعية كإنزيم النكلياز Nuclease يقوم بشطر لا نوعي وغير مرتبط بتسلسل نوكليوتيدي محدّد لطاقي الدنا في حال وجود تباين أو عدم تكامل Mismatch في أزواج النوكليوتيدات، كما يحصل في حالات تغاير الألائل Heterozygocity. من أجل ذلك، يُضخَّم التسلسل المستهدف في كلا الأليلين، الطبيعي والطافر، ثم تعرّض نواتج الـ PCR إلى حرارة عالية متبوعة بالتبريد لينجم عن ذلك فك وإعادة ارتباط طاقي الدنا المتكاملين بعضهما مع بعض. إلا أن قسماً من القطع المعاد

ارتباطها تتكوّن من مثنويات متغايرة Hetero-duplexes تحتوي على عدم تكامل في موقع الطفرة بين النوكليوتيدين المتقابلين نتيجة ارتباط طاق من الأليل الطبيعي مع المكمل له من الأليل الطافر. يقوم بعد ذلك إنزيم النكلياز بشطر المثنويات المتغايرة. وتظهر القطع المشطورة بشكل عصابات صغيرة الحجم على هلامة الرحلان الكهربائي (الشكل 8-16)، ليدلَّ وجودها على طفرة في أحد الأليلين، بينما يظهر الدنا متماثل الألائل سواءً بالنسبة للأليل الطبيعي أو الطافر على شكل عصابة واحدة.



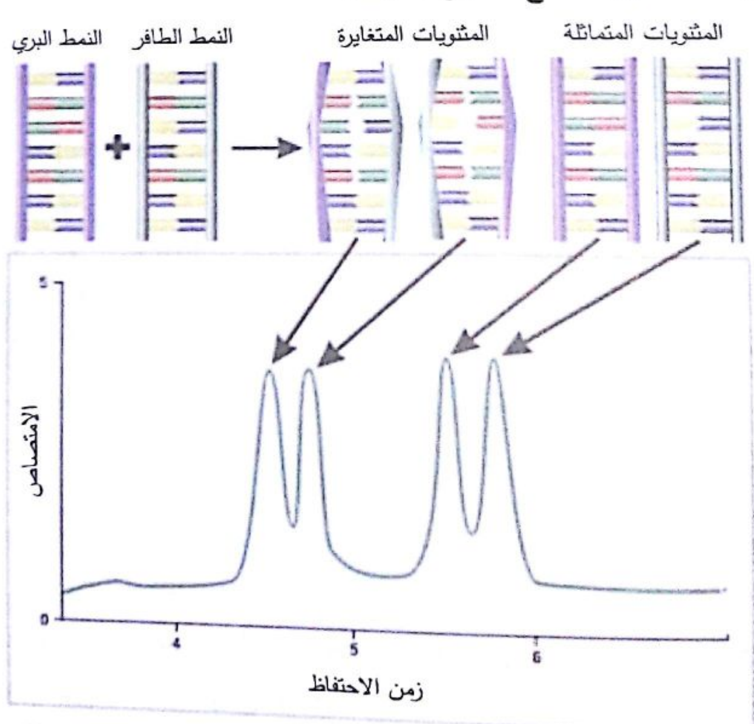
(الشكل 8-16). كشف الطفرات متغايرة الألائل عن طريق القطع بإنزيم النكلياز. تُضخَّم قطع الدنا بتفاعل الـ **PCR** ثم تعرّض نواتج التفاعل إلى درجة حرارة مرتفعة ثم منخفضة لفك وإعادة ارتباط طاقي الدنا. في حال وجود **طفرة في أحد الأليلين فقط** (حالة متغاير الألائل) تتشكّل المثنويات المتغايرة التي تُستهدف من قبل إنزيم النكلياز **في موقع الطفرة** ويسبب ذلك عدم التتام بين الزوج النوكليوتيدي المتقابل. ويقوم الإنزيم بشطر الدنا في موقع **المثنويات المتغايرة فقط** لتنتج جزيئات دنا ذات حجوم أصغر من حجم عصابة الدنا الأساسية الممثلة لناتج تضخيم الدنا، **بينما تظهر المثنويات** المتماثلة سواء للنمط البري (الطبيعي) أو الطافر على هلامة الرحلان كعصابة واحدة فقط **لأنها لا تُستهدف من قبل** إنزيم النكلياز.

2.6.8. كشف وجود الطفرات باستخدام تقنية dHPLC

جرى في العقد الماضي تطوّر مهم في فصل نواتج تضخيم الدنا والحصول على تقانات ذات ميز عال جدّاً تسمح بالكشف عن استبدال نوكليوتيدي واحد، ودون الحاجة للمعاملة أنزيمات الاقتطاع أو النكلياز. وقد سمحت تقنية الاستشراب اللوني السائل رفيع الإنجاز الممسّخ Denaturing High Performance Liquid Chromatography أو (dHPLC) بتحسين قدرة الفصل بين المثنويات المتغايرة المتشكّلة في حالة تغاير اللواقح للطفرات. وتعتمد هذه التقنية على اختلاف التآثر بين جزيئات الدنا المثنوية المتماثلة Homo-duplexes والمتغايرة Hetero-duplexes مع الطور الثابت في عمود الـ HPLC. ويُستخدم في هذه التقنية طوران؛ الأول ثابت Stationary، ويتكوّن عادةً من مادة البوليستيرين، والآخر متحرّك

Mobile يحتوي مادة الأسيتونتريل ومادة TEAA التي تساعد على ربط الدنا مع الطور الثابت داخل عمود الاستشراب. في ظروف غير ممسّخة Non-denaturing، وباستخدام حرارة أقل من 50° م، تُشطف قطع الدنا تبعاً لحجمها إذ تخرج من عمود HPLC أولاً القطع صغيرة الوزن الجزيئي بينما تتميّز القطع الأكبر حجماً بزمن احتفاظ Retention Time أطول في عمود HPLC قبل شطفها خارجه كونها تبقى مرتبطةً بالطور الثابت. أما في ظروف ممسّخة جزئياً Partially Denaturing، فيمكن حتّى التمييز بين قطعتي دنا لهما الحجم نفسه لكن يختلف بعضهما عن بعض بزوج نوكليوتيدي واحد نتيجة إحدى طفرات الاستبدال.

تتضمّن خطوات العمل إجراء تفاعل الـ PCR كما السابق، متبوعة بصهر منتجات التفاعل عند درجات حرارة مرتفعة ثم إعادة ارتباطها عند درجات منخفضة إذ تتشكل وفقاً لذلك مثنويات متماثلة تضمّ إمّا طاقين سليمين أو طاقين طافرين، إضافةً إلى مثنويات متغايرة تضم طاقاً سليماً وآخر طافراً. تتشكّل في المثنويات المتغايرة فقاعات Bubbles ناجمة عن ابتعاد طاقي الدنا المتغايرين في موقع وجود النوكليوتيد الطافر، إذ لا تتشكل روابط هدروجينية بين النوكليوتيدات غير المتكاملة، ويؤدي ذلك إلى خفض عدد الشحنات اللازمة للتآثر مع الطور الثابت، ومن ثم شطف المثنويات المتغايرة بوقت أقل من المثنويات المتماثلة (الشكل 8-17). زيادةً على ذلك، يمكن التمييز بين قمّتين للمثنويات المتماثلة أو المتغايرة، تمثّل كل منها أحد احتمالي الزوج النوكليوتيدي المتشكّل في مكان الطفرة النقطية، الذي ينعكس بالاختلاف في قدرة ارتباط المثنويات مع الطور الثابت.

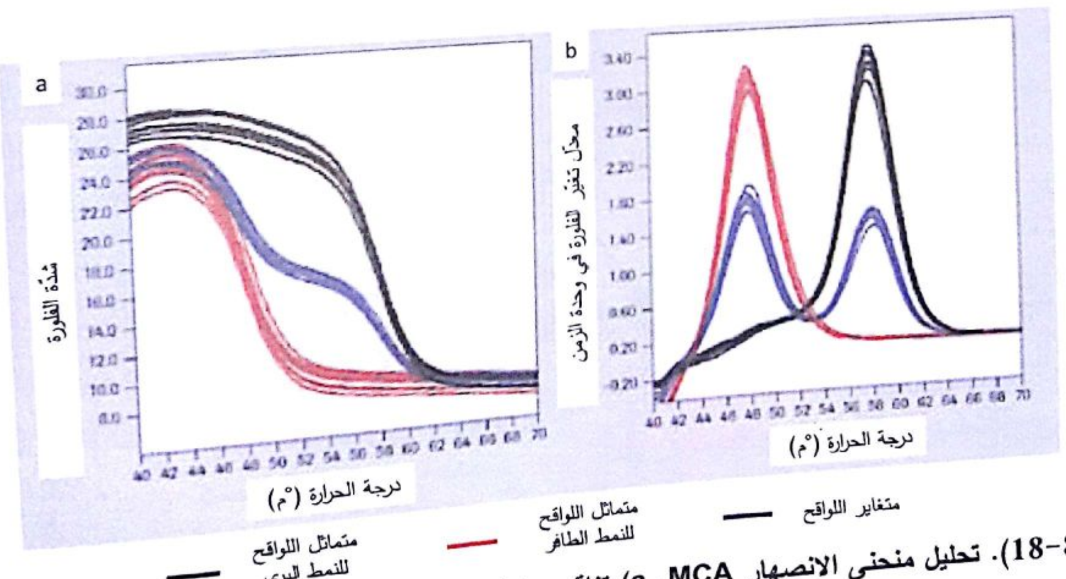


(الشكل 8-17). رسم تخطيطي يوضّح استخدام تقنية dHPLC في كشف وفصل المثنويات المتماثلة والمتغايرة الناجمة عن الطفرات النقطية، إذ تُشطَف المثنويات المتغايرة أولاً، تتبعها المثنويات المتماثلة، ويظهر نوعا المثنويات

بشكل قمتين لكل منهما تمثّلان احتمالي زوج المثنويات (لاحظ النوكليوتيد الثالث من الأعلى). ويُكشف عن قطع الدنا عند شطفها وخروجها من العمود بمقايسة الزيادة في الامتصاص الضوئي للدنا.

3.6.8. كشف وجود الطفرات عن طريق تحليل منحني الانصهار Melting Curve Analysis (MCA)

يمكّن تفاعل الـ PCR اللحظي والكمّي qPCR من كشف الطفرات عن طريق إجراء تفاعل الـ PCR بوجود إحدى الصبغات المفلورة Fluorescent Dyes، مثل SYBRgreen وEVAgreen، التي تعطي فلورة فقط عند ارتباطها بنواتج الـ PCR ثنائية الطاق، ومن ثمّ تعريض تلك النواتج إلى درجات حرارة متزايدة للكشف اللحظي عن انفصال طاقي الدنا وتحوّله إلى أحادي الطاق، الذي يترافق مع انخفاض حادّ في شدّة الفلورة يمكن تحرّيه باستخدام ليزرات خاصّة. وينجم عن التغيّر في شدّة الفلورة مع الزمن ما يدعى منحنى الانصهار Melting Curve الذي يختلف بحسب التركيب النوكليوتيدي لجزيئات الدنا، ومن ثم يمكنه الكشف عن وجود الطفرات التي غالباً ما تؤثّر في شكل منحنى الانصهار. وتعرّف نقطة الانصهار Melting Point بدرجة الحرارة التي تكون عندها نصف جزيئة الدنا ثنائية الطاق ونصفها الآخر أحادي الطاق. ويمكن أن نميّز نقاط انصهار مختلفة لكل من متماثل اللواقح للنمط البري Wild Type والنمط الطافر Mutant Type، بينما تظهر للنمط متغاير الألائل نقطتا انصهار تتناسبان مع نقطتي انصهار كل من النمطين البري والطافر (الشكل 8-18 a وb). وهكذا، يمكن بواسطة هذه التقنية الكشف عن وجود الطفرة والتمييز بين النمطين المتماثل أو المتخالف للأليل الطافر.



(الشكل 8-18). تحليل منحنى الانصهار MCA. a) تناقص شدّة الفلورة مع ازدياد درجة الحرارة، ويمكن تمييز ثلاثة أشكال للمنحنى؛ شكل النمط البري متماثل اللواقح، وشكل النمط الطافر متماثل اللواقح، وشكل النمط متغاير اللواقح (عند وجود أليل سليم وأليل طافر لدى الشخص). b) تختلف نقطة انصهار جزيئات الدنا (درجة الحرارة عند قمّة كل

منحني) تبعاً لوجود أو غياب الطفرة، إذ يمكن أن نميّز نقطة انصهار للنمط البري تقارب 58 °م، ونقطة انصهار للنمط الطافر تقارب 48 °م، بينما تظهر في العينات متغايرة اللواقح قمّتان تعكسان وجود كلّ من الأليلين البري والطافر.

والجدير بالذكر أنه يتوجّب في كل التقانات السابق ذكرها استخدام دنا مرجعي، من النمطين البرّي أو الطافر، يمكن تضخيمه وكشفه ومقارنته مع نتائج العينات المراد تحليلها وتحليل الطفرات فيها. من جهةٍ أخرى، يكون تأثير طفرات الاستبدال على جميع التقنيات السابقة أقل من تأثير طفرات الحذف والإضافة، مما يجعل من الصعوبة الكشف عن طفرات الاستبدال النقطية Point Mutations إلاّ باستخدام تقنيات عالية الميز كالتي ذكرت آنفاً. وأخيراً، لا بدّ أن نذكّر أن جميع التقنيات السابقة تسمح بالكشف عن وجود الطفرات لكنها لا تمكّن بالضرورة من تحديد نوع النوكليوتيدات التي استبدلت أو أضيفت أو حُذفت من جزيئة الدنا، التي يلجأ لتحديدها إلى اتّباع تقنيات أخرى من أهمها تقنيّات التهجين وسَلسَلة الدنا.

7.8. المعالجة الجينية Gene Therapy

توازياً مع التقدّم الكبير في التقانات الجزيئية وانعكاسها على تطوير تشخيص الأمراض، بدا أن حلم الإنسان القديم بتغيير تكوينه الجزيئي واختيار بعض الصفات المحببة والابتعاد عن تلك المسببة للأمراض يمكن أن يتحقّق. وتضافرت لذلك جهود مئات المجموعات البحثية حول العالم للبحث في احتمال شفاء الأمراض الوراثية ليس عن طريق معالجة الأعراض وحسب، بل في تصحيح الخلل الجيني نفسه عن طريق استبدال الجين الفاقدة لوظيفتها نتيجة الطفرات بجين سليمة تُعيد للإنسان النمط الظاهري السليم. وسنذكر في ما يلي بعض الأمثلة عن المعالجات الجينية Gene Therapies.

بدأت أولى محاولات إدخال الجينات الفعالة إلى جسم المرضى في الثمانينيات من القرن الماضي لعلاج أطفال مصابين بعوز مناعي مترافق وشديد **S**evere **C**ombined **I**mmuno**d**eficiency أو اختصاراً SCID. ينجم هذا النمط من العوز المناعي عن غياب فعالية إنزيم Adenosine Deaminase أو *ADA* الضروري لعملية نضج كل من اللمفاويات التائية والبائية في الغدة السعترية ونقي العظم. وينجم عن العوز في *ADA* غياب فعالية الجملة المناعية لدى المريض بذراعيها الخلوي Cellular والخلطي Humoral (أنظر الفصل الثاني عشر)، مؤدياً إلى سهولة تعرّض المريض لإنتانات فيروسية وجرثومية شديدة تكون قاتلة في معظم الأحيان. أدخلت جين *ADA* السليمة في مجين أحد الفيروسات القهقرية Retroviruses وتم إعداء عدد من المرضى الأطفال بالفيروس المعدّل جينياً. وبعد عدة أشهر ظهرت النتائج المشجعة جداً أن معظم الأطفال المعالجين قد تحسّنت الاستجابة المناعية لديهم تجاه العوامل الممرضة. وبدا أن حقل المعالجة الجينية آخذٌ بالازدهار. لكن بعد أقل من سنة تطوّر لدى عدد من الأطفال ابيضاضات دم سرطانية اتضح فيما بعد أن معظمها نتج عن انغراس مجين الفيروس القهقري بقرب بعض الجينات المولدة للورم Oncogenes في مجائن المرضى وتفعيلها لتلك الجينات، الأمر

الذي أدى إلى تطور السرطانات لديهم. كان ذلك ضربة شديدة لحقل المعالجة الجينية وتوقفت الكثير من الأبحاث إثر ذلك، لكنها استعادت ألقها بعد عقد من الزمن نتيجة الفعالية المتميزة التي أظهرتها المعالجات الجينية في الكثير من الدراسات السريرية على مرضى مصابين بأعواز جينية مختلفة.

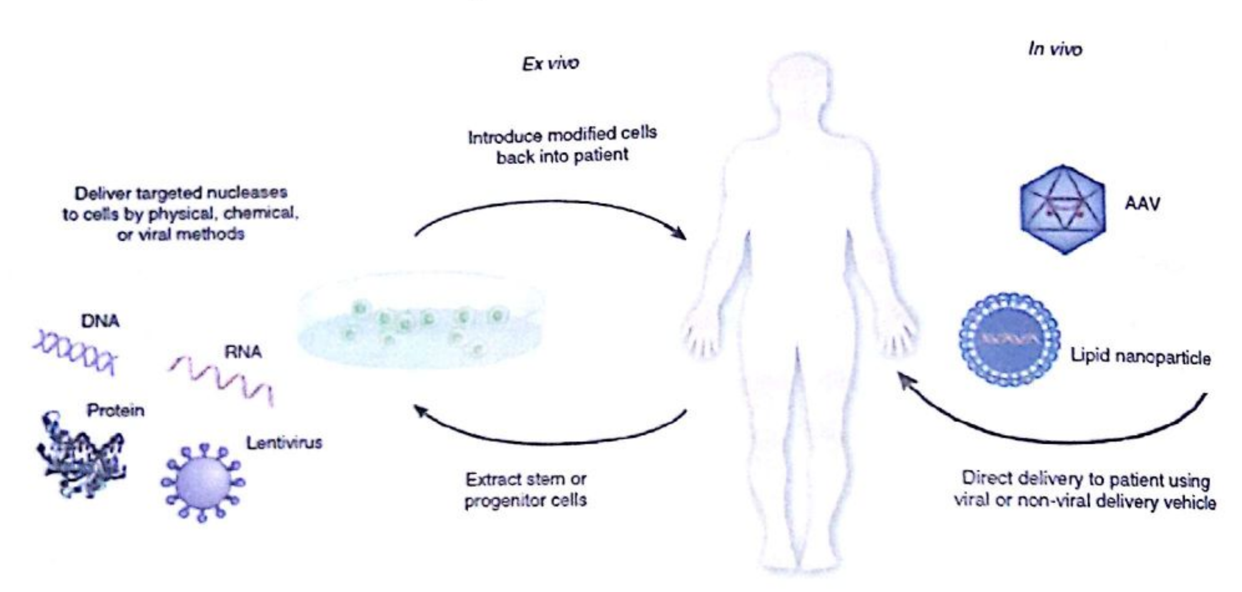
من أهم الأمراض الوراثية التي تستهدف اليوم بالمعالجات الجينية هي التليف الكيسي Cystic Fibrosis، والحثل العضلي Muscular Dystrophy والناعور Hemophilia والعمى الخلقي Congenital Blindness. إضافةً لذلك، تستهدف المعالجة الجينية بعض الأمراض المكتسبة Acquired Diseases كالسرطان Cancer والأمراض التنكسية العصبية Neurodegenerative Diseases والإيدز AIDS والتهاب الكبد Hepatitis.

ويمكن تقسيم العلاجات الجينية إلى قسمين اثنين (الشكل 8-19):

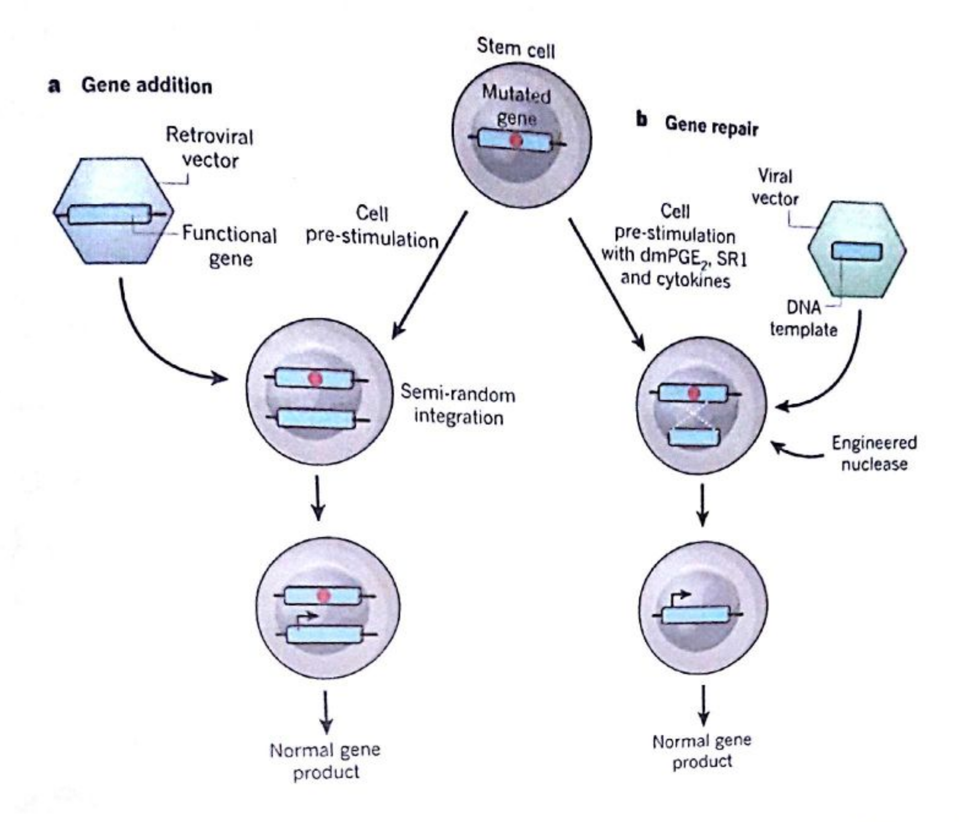
- المعالجة الجينية داخل العضوية in vivo Gene Therapy: ويجري خلالها حقن مباشر لجسيمات الفيروس المعدّل جينياً ضمن الكائن الحي الذي يُعدي الخلايا بشكل مباشر، ويجري التعبير عن الجين المنقولة ضمن الخلايا المستهدفة بالفيروس. على سبيل المثال، جرى حقن الفيروس المرافق للفيروس الغدّي Adeno-Associated Virus الحامل لجين عامل التخثر التاسع في الوريد الكبدي البابي Hepatic Portal Vein لدى عدد من مرضى الناعور ب، حيث اقتيدت جسيمات الفيروس مباشرة إلى خلايا الكبد، وأعدَتْ الخلايا الكبدية التي شرعت بعد ذلك بأسابيع قليلة بالتعبير عن العامل التاسع وتصحيح العوز في هذا العامل لدى المرضى.
- المعالجة الجينية خارج العضوية *ex vivo* Gene Therapy: تتضمّن هذه الطريقة إخراج خلايا محددة من المريض وإكثارها في المختبر ومن ثم إعداءها بالفيروس المعدّل جينياً ومن ثمّ إعادة الخلايا المعدّلة جينياً إلى المريض التي تقوم بالتعبير عن الجين المُدخلة داخل العضوية. جرى في هذا الصدد الحصول على الخلايا الجذعية المولدة للدم Hematopoietic Stem Cells أو HSCs من دم مرضى SCID (السابق ذكرهم) بعد تحريض انتقالها من نقي العظام إلى الدم، وأعديت هذه الخلايا بفيروس قهقري حاو على جين *ADA*، ومن ثم أعيدت إلى دم المرضى. استوطنت الخلايا المحقونة مرة أخرى نقي العظام لدى المرضى وشرعت بالتعبير عن الجين مما أدى إلى تحسّن واضح في فعالية الجملة المناعية لديهم. في الواقع، هنالك كثير من قصص النجاح المثيرة للمعالجة الجينية خارج العضوية. من بين تلك؛ التعديل الجيني خارج العضوية للخلايا التائية المساعدة Helper T Cells التي يستهدفها فيروس الإيدز، بحيث تغيّر الخلايا من شكل أحد مستقبلاتها الغشائية الضروري لارتباط فيروس الإيدز به قبل الدخول إلى الخلية. وبذلك يمكن استخرج الخلايا التائية المساعدة للمريض وتعديلها جينياً وإعادتها إليه بحيث لا يتمكّن الفيروس من إعدائها حتى ولو كان متوافراً بتراكيز عالية في مصل المريض. ومن الأمثلة الممتعة أيضا استخراج بعض الخلايا السرطانية من جسم المريض وتعديلها جينياً بحيث

تعبّر عن أحد عوامل النموللخلايا التائية التي تكون مسؤولة عن القضاء على خلايا الورم. وهكذا، وبعد إعادة الخلايا السرطانية المعدّلة جينياً تقوم هذه الخلايا نفسها بتفعيل الخلايا التائية التي تهاجمها مما يقوي الاستجابة المناعية ضد خلايا الورم.

أما التطور الكبير خلال السنوات القليلة الماضية في ميدان المعالجة الجينية فلا يكمن فقط في استبدال الجين المعوزة المتضررة في خلايا المريض بل في قص الجين المعوزة واستبدالها بالجين السليمة ضمن الموقع المجيني ذاته، داخل أو خارج العضوية. وتبرز هنا تقانات عدّة تستخدم نواقل فيروسية معدّلة جينياً تحتوي على الجين السليم إضافةً إلى جين لإنزيم نكلياز Nuclease نوعي شطر الدنا على أطراف الجين المعوزة ويستبدلها بالجين السليم. ويبدوأن لهذه التقانات الأخيرة مستقبلاً واعداً جداً في تصحيح الطفرات الجينية سواء داخل العضوية أو خارجها (الشكل 8-20).



(الشكل 8-19). المعالجة الجينية داخل وخارج العضوية. يدخل الفيروس في المعالجة داخل العضوية *in vivo* مباشرة إلى جسم المريض، ويؤدي إلى التعبير عن الجين التي يحملها في الخلايا المستهدَفة، بينما تُستخرج الخلايا المستهدفة بالمعالجة الجينية خارج العضوية *ex vivo* ونعديها بالفيروس ومن ثم نعيدها إلى داخل جسم المريض لتقوم بالتعبير عن الجين المنقولة بالفيروس المعدّل جينياً.



(الشكل 8–20). إضافة أو إصلاح الجين المعوزة بالمعالجة الجينية. a) تُمكن إضافة جين سليمة خارج العضوية إلى خلية جذعية عبر ناقل فيروسي حيث تحتوي الخلية على النسخة المعوزة إضافةً إلى النسخة السليمة المنقولة. b) يقوم إنزيم النكلياز المحتوى ضمن نفس الناقل الفيروسي، جنباً إلى جنب مع الجين السليمة، بشطر الدنا على طرفي الجين المعوزة، ومن ثم استبدال الجين السليمة مكان المعوزة، وبذلك تحتوي الخلية الجذعية فقط على النسخة السليمة من الجين.

8.8. المتعضّيات المحوّرة جينياً (GMOs) Genetically Modified Organisms

رأينا في الفقرة السابقة أنه، عبر المعالجة الجينية، قد أصبح بالإمكان إضافة جين سليمة لتصحيح الخلل في عوز جيني ما أو حتى استبدال الجين السليمة مكان الجين المعوزة. في الواقع، يمكن لهذا التعديل أن يحوّل الكائن المستهدف بالمعالجة الجينية، سواء كان بشراً أم حيواناً أم نباتاً أم جرثوماً، إلى متعضّية محوّرة جينياً GMO. مع ذلك، يشار عموماً إلى المتعضّيات المحوّرة جينياً أنها تلك التي تجري عليها تعديلات أهم وأكبر من استبدال جين واحدة تتبع لنفس النوع Species. وتبرز هنا أمثلة عن كثير من النماذج الحيوانية، أهمها الفأر، التي جرى عليها إلغاء جين أو عدة جينات من مجينها أو إضافة جينات بشرية لأغراض شتّى أو حتى استبدال نوى الخلايا بنوى غيرها، ويقدّم هذا المنحى الأخير لتقانات الاستنساخ Cloning.

1.8.8. إقصاء الجين Gene Knock out

يمكن عن طريق إقصاء الجينات الحصول على نماذج حيوانية يُلغى فيها التعبير عن البروتينات التي ترمّزها هذه الجينات ودراسة تأثير ذلك في النمط الظاهري للكائن الحي واستقراء وظيفة الجين في حال كانت الوظيفة مجهولة أو غير محدّدة بدقة.

وكمثال عن الخطوات المتبعة لإقصاء جين في الفأر نذكر الخطوات التالية (الشكل 8-21):

- يجري تضخيم الجين المراد إقصاؤها بتفاعل الـ PCR واستخدام مشارع نوعية للجين.
- يتم غرس تتالي لجين أخرى ترمّز بروتيناً مقاوماً لأحد الصادات الحيوية (النيومايسين) داخل تتالي الجين المراد إقصاؤها، ومن ثم تعطيل الجين.
- تُنقل الجين المعطَّلة في المختبر إلى خلايا فأرية جنينية، إذ يمكن أن تتداخل مع تسلسل الجين الأصلية الموجودة في مجين الخلايا عبر التأشيب المماثل Homologous Recombination، ويقوم على مبدأ التماثل بين تتاليات الجين المعطل والجين الأصلية إذ يتفكك طاقا الجين المعطَّل والأصلي، ويعودان للارتباط لكن بشكل تنغرس فيه الجين المعطّل مكان الجين الأصلية.
- يُجرى انتقاء الخلايا الجنينية التي نجح فيها انغراس الجين المعطّل مكان الجين الأصلية عبر استنبات الخلايا بوسط يحتوي الصاد الحيوي نيومايسين. وهكذا، تنمو فقط الخلايا التي تحتوي على البروتين المرمَّز من قبل جين النيومايسين المُقحمة في مجين الخلايا.
- تحقن الخلايا إيجابية الانغراس في جنين فأر آخر لتتطور لاحقاً إلى خلايا وأنسجة لا تعبّر عن منتج الجين المعطّل أو الذي تم إقصاؤه.

من النماذج الحيوانية الشائعة التي حُضّرت بهذه الطريقة الفئران التي أقصيت لديها جينتا عاملي التخثّر الثامن والتاسع لينتج نموذجان للناعور A والناعور B، على التوالي. مكّن هذان النموذجان من دراسة تأثير الأدوية المضادة للنزف التي استخدمت لاحقاً في علاج مرضى الناعور.

(الشكل 8-21) مثال عن خطوات إقصاء الجين Gene Knock Out. تنقل الجين المعطلة بالنيومايسين إلى خلايا جنينية فأرية، ويتم انتقاء الخلايا المقاومة للصاد الحيوية ونقلها إلى جنين فأر آخر ومن ثم دراسة تأثير غياب الجين في الخلايا المتمايزة الناتجة عن تعطيل وإقصاء الجين المستهدفة.

2.8.8. إضافة الجين Gene Knock in

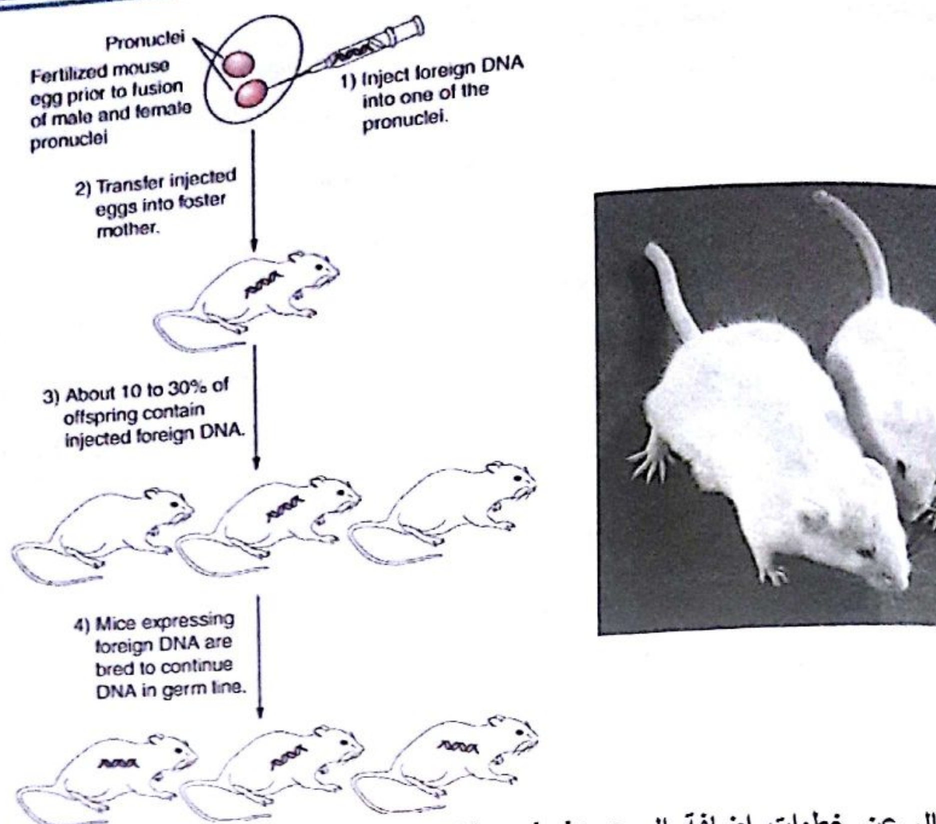
بشكل مماثل لإقصاء الجين، تمكن دراسة وظيفة جين بشري ما بإضافة هذا الجين إلى مجين الفأر واستقراء نتائج ذلك على النمط الظاهري للحيوان.

وكمثال عن الخطوات المتبعة لإضافة جين بشري إلى مجين الفأر نذكر الخطوات التالية (الشكل 8-22):

- تُحقن قطعة من الدنا البشري حاوية على الجين المراد إضافتها داخل طليعة النواة Pronucleus للنطفة أو البويضة قبل اندماج طليعتي النوى وتشكيل الزيجوت Zygote.
- تنقل الزيجوت إلى رحم فأرة أم بديلة، وينمو الجنين لتكون نحو 30% من الذرية إيجابية تعبّر عن الجين البشرية.

على سبيل المثال، لدى إضافة جين هرمون النمو البشري إلى الفأر ينتج فأر أكبر حجماً بشكل واضح عن أقرانه نتيجة النمو المحرّض بالهرمون البشري (الشكل 8-22). ويدعى الفأر الذي تلقّى جين غريبة عنه بـ Transgenic Mouse.

والجدير هنا بالذكر أنه تمّ في الكثير من النماذج الحيوانية دمج تقانتي إقصاء وإضافة الجينات حيث أقصيت جينات الفأر، وأضيفت مقابلاتها من جينات بشرية بهدف معرفة سلوك البروتين البشري ضمن الفأر إضافةً إلى تحضير كواشف يمكن استخدامها في الكثير من التجارب البحثية. يدعى الفأر المحضّر بهذه الطريقة بـ Knock out/knock in Mouse.



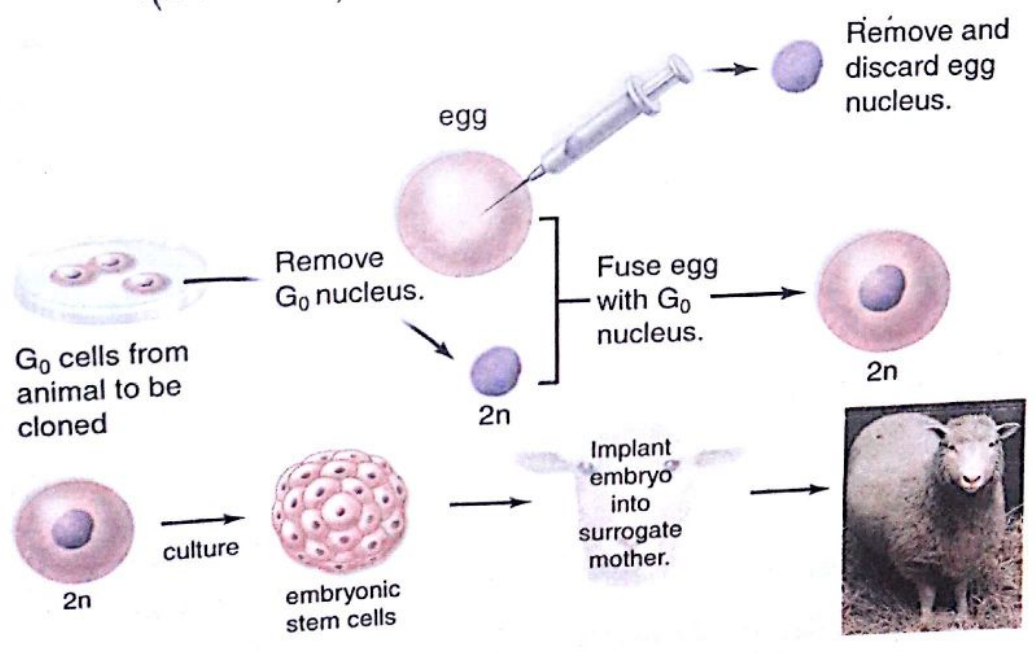
(الشكل 8-22) مثال عن خطوات إضافة الجين Knock In. (يسار) تؤدي إضافة قطعة دنا غريب لإحدى طليعتي النواة في البيضة المخصبة قبل دمج طليعتي النواة معاً إلى إنتاج فأر يعبّر عن الجين الغريب ويدعى بـ Transgenic Mouse. ولاحقاً يُجرى تزاوج لهذا الفأر لينقل عن طريق التزاوج وبشكل بسيط وسهل الجين الغريبة إلى الأجيال القادمة. (يمين) مقارنة بين حجم فأرين؛ الأول فأر طبيعي من النمط البري (الشائع) Wild Type (إلى يمين الصورة) والثاني فأر Transgenic يُعبّر عن جين هرمون النمو البشري (إلى يسار الصورة). ويبدو واضحا أن حجم الفأر الثاني أكبر نتيجة تلقّيه جين هرمون النمو والتعبير عن بروتين فعال أدّى وظيفته في تحفيز النمو.

3.8.8. نقل النواة الجسدية (SCNT) Somatic Cell Nuclear Transfer والاستنساخ Cloning

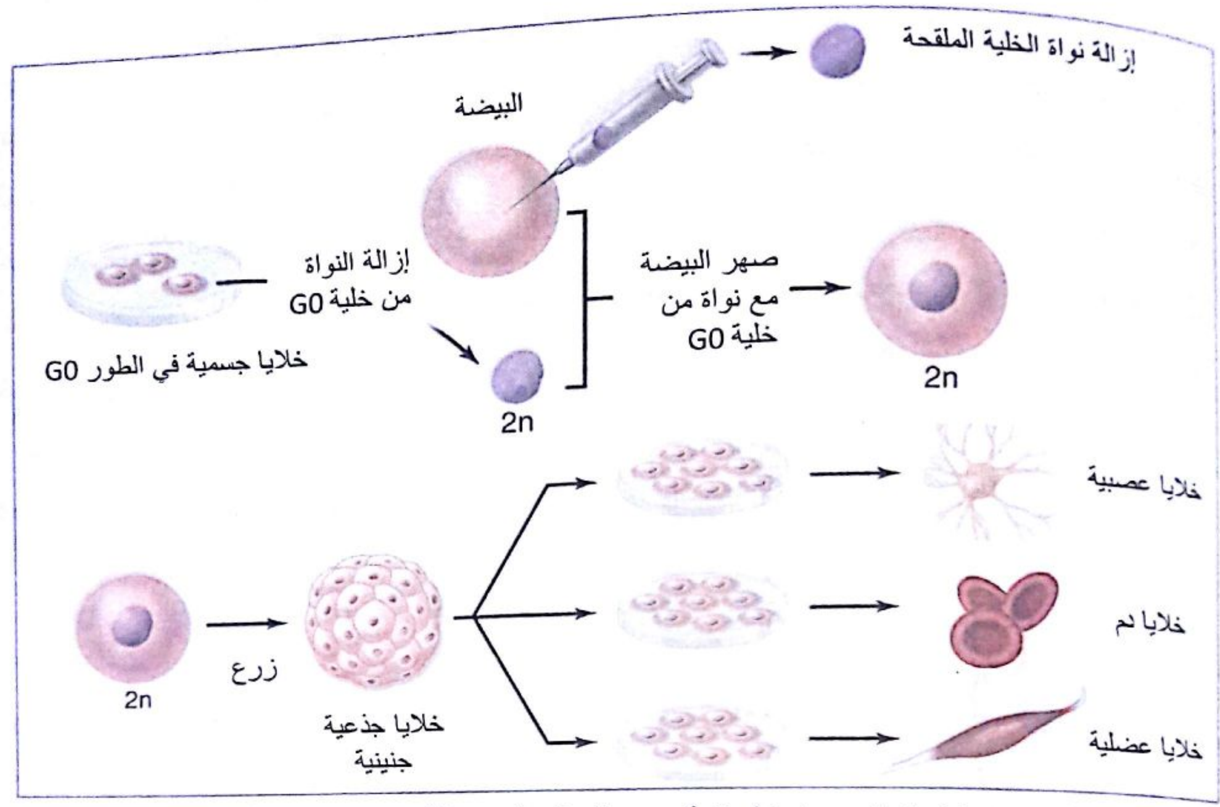
تعود بداية محاولات الاستنساخ التجريبي إلى العالم الألماني هانز سبيمان Hans Spemann في بدايات القرن العشرين، الذي أظهر بوسائله البسيطة أن انتقال نواة إحدى خلايا القسيم الأرومي الجنيني Blastomere لجنين الضفادع من خلية منوّاة إلى خلية أخرى منزوعة النواة قد أدّى إلى تطور الخلية التي اكتسبت النواة لتعطي شرغوفاً سليماً. منذ ذلك الحين، كثرت المحاولات لتطبيق المبدأ نفسه على الحيوانات الثديية بهدف استنساخ الحيوانات ذات الأنماط الجينية Genotypes الأمثل، الأمر الذي سينعكس بالضرورة على انتخاب أفضل سلالات من تلك الحيوانات وتحسين أنماطها الظاهرية. واستمرت تلك المحاولات إلى أن أثبت العالم الإنكليزي إيان ويلموت Ian Wilmut عام 1996 نجاح ذلك، أن أنتج أول حيوان ثديي بطريقة نقل نواة الخلية الجسمية Somatic Cell Nuclear Transfer أو SCNT، وليس بالطبع عن طريق التكاثر الجنسي Sexual Reproduction الطبيعي.

كان ذاك الحيوان هو النعجة الشهيرة دوللي Dolly، التي أظهرت تطابقاً تاماً مع النعجة الأم، إنْ من حيث الشكل أو التكوين الوراثي. ولتحقيق ذلك، قام ويلموت في مختبره بزرع خلايا ظهارية من الغدد الثديية للنعجة "الأم" من فصيلة أغنام تسمّى بـ Poll Dorsets (بيضاء لون الوجه) في المخبر، ومن ثم اختيرت إحدى تلك الخلايا وسحبت منها النواة. في الوقت نفسه، أُخذت بيضة مُخصَبة نتجت عن تكاثر جنسي طبيعي لأغنام من فصيلة أخرى تسمّى بـ Scottish Blackface (سوداء لون الوجه) وسحبت منها النواة أيضاً لتتحوّل إلى خلية منزوعة النواة Enucleated Cell، ثم حقنت داخلها نواة الخلية الثديية لفصيلة Poll Dorsets بحيث تم صهر النواة وهيولى الخلية منزوعة النواة بعضهما مع بعض. نتيجةً لذلك، تكوّنت بيضة مُخصَبة تحوي نواةً وهيولى تتبعان لفصيلتين مختلفتين من الأغنام، وتبع ذلك تطور البيضة وانقسام الخلايا الجذعية الجنينية لتشكّل الجنين Embryo. طوّر ويلموت ومعاونوه 277 جنيناً بطريقة نقل النواة الجسمية هذه وصل منها 29 جنيناً فقط إلى مرحلة الكيسة الأُريمية Blastocysts ونقلت الكيسات إلى أرحام أمهات بديلة Surrogate Mothers لإناث أغنام Blackface ، وحصل الحمل عند إحدى تلك الإناث فقط لتلد النعجة دوللي ذات الوجه الأبيض (الشكل 8-23). أدرك ويلموت ببساطة نجاح عملية استنساخ دوللي، التي أظهر وجهها الأبيض أن خلاياها تمتلك التكوين الوراثي للخلايا التي انتزعت منها النوى، وليس لخلايا البيضة المخصَبة منزوعة النوى.

يدعى هذا النوع من الاستنساخ بالاستنساخ التكاثري Reproductive Cloning الهادف إلى ولادة كائن حي تُعرف صفاته الوراثية بشكل مسبق (صفات أم النعجة دوللي نفسها). وحديثاً نشط نوع آخر من الاستنساخ سمي بالاستنساخ العلاجي Therapeutic Cloning غير الهادف لإنتاج حيوانات مستنسَخة بل الهادف للحصول على خلايا جذعية جنينية معروفة الصفات الوراثية، يمكن تحريض تمايزها إلى خلايا ونسج تفيد في الطب التجديدي Regenerative Medicine (الشكل 8-24).



(الشكل 8-23) استنساخ النعجة دوللي. بدأت خطوات الاستنساخ بإكثار خلايا ثدي ظهارية للنعجة الأم في المختبر ونزع نواة إحداها وإيلاجها في خلية بيضة مُخصَبة منزوعة النواة. تطورت البيضة المخصبة وأعطت جنيناً زُرع في رحم نعجة أم بديلة وأنتج دوللي التي امتلكت كامل الصفات الوراثية لأمها.



(الشكل 8-24) الاستنساخ العلاجي. تؤخذ خلية جسمية بشرية معروفة الصفات الوراثية وتزال نواتها وتزرع في خلية مخصبة بشرية منزوعة النواة. تتطور البيضة المخصبة لتصل إلى مرحلة الكيسة الأريمية Blastocyst. تشتق من الكيسة الخلايا الجذعية الجنينية Embryonic Stem Cells (ESCs) التي يمكن تحريض تمايزها إلى خلايا ونسج يمكن أن تستخدم في تجديد النسج لدى نفس الشخص المعطي للخلايا الجسمية.

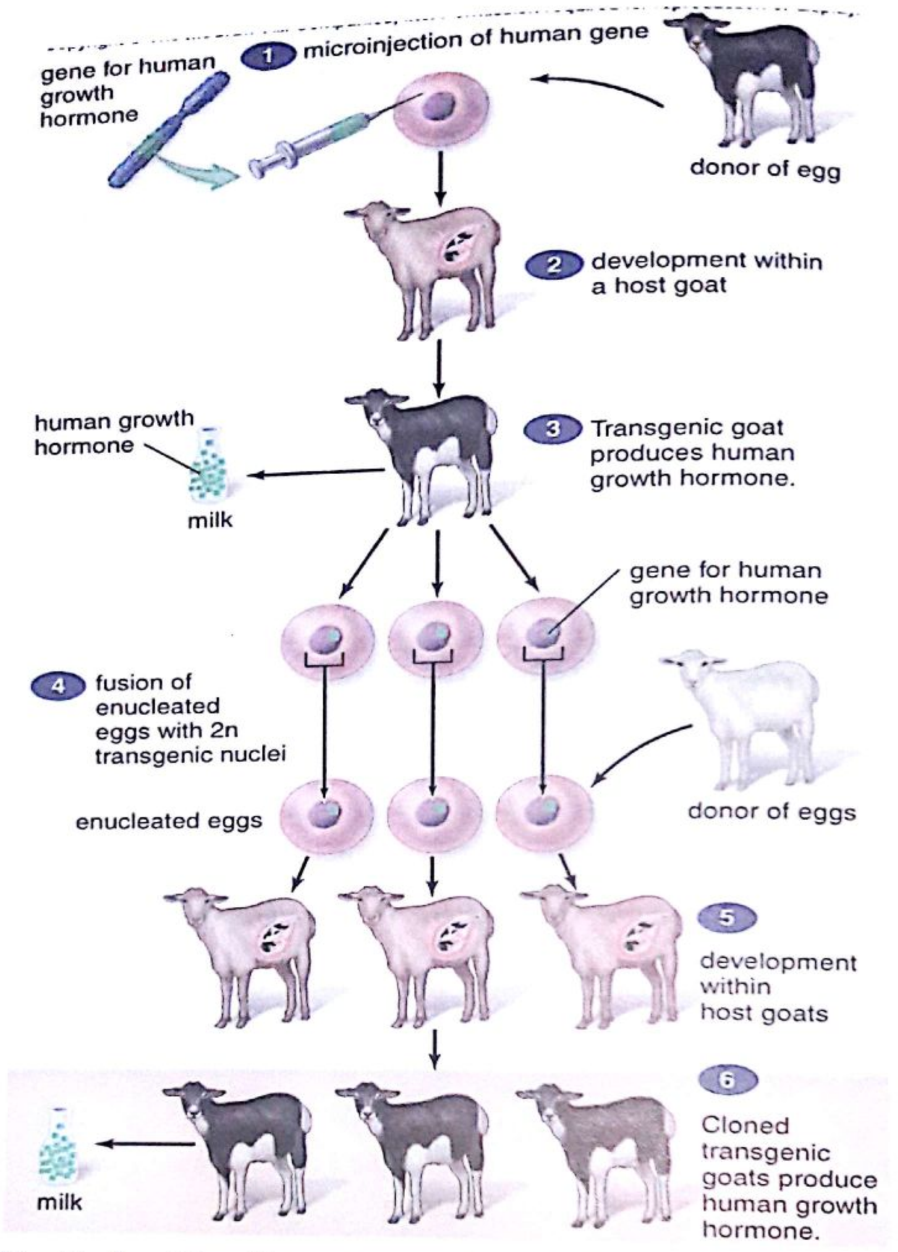
وأخيراً، يمكن دمج تقانتي إضافة الجينات ونقل النواة الجسمية معاً للحصول على أحد التطبيقات المهمة في عالم تصنيع الدواء في الكائنات الحية أو ما يسمى بالصيدلة الجينية Gene Pharming. على سبيل المثال، يمكن إنتاج هرمون النمو البشري وجمعه في حليب الماعز عبر توليد أنثى ماعز Transgenic تعبّر عن جين هرمون النمو البشري، ومن ثم استنساخها بنقل بعض من نواها الجسدية إلى بيوض منزوعة النوى (الشكل 8-25). تبدأ عملية الإنتاج بتحرير جين هرمون النمومن الدنا البشري. يحقن الدنا الحاوي على الجين بشكل مجهري في نواة إحدى البيوض المخصبة الأنثوية للماعز، ويتم نقل الجنين المتشكل، الذي أصبح الآن معدّلاً وراثياً، إلى رحم أم بديلة ليكمل تطوره باتجاه أنثى ماعز بالغة ومعدّلة وراثياً. تفرز أنثى الماعز المعدّلة وراثياً هرمون النموفي حليبها، إذ يتم جمع البروتين وتنقيته تهيئةً لاستخدامه كدواء. وعلى اعتبار أن تحضير الحيوان المعدل وراثياً من الناحية العملية مكلف، ويتطلّب وقتاً طويلاً وقليل النجاح، يمكن زيادة مردود العمل عبر نقل نواة جسدية للماعز المعدّل وراثياً، والمعبّر

عن جين هرمون النمو البشري، إلى بيوض مخصّبة منزوعة النواة مأخوذة من ماعز معطي Donor، وذلك لاستنساخ عدد كافٍ من الماعز المحوّر وراثياً لإنتاج الكميات المرغوبة من هرمون النمو.

وتجدر الإشارة في هذا الصدد إلى أن عدة مراكز عالمية اليوم تسعى جاهدةً إلى إنتاج كثير من البروتينات العلاجية الأخرى لأمراض مثل التليف الكيسي Cystic Fibrosis، وأمراض الدم والسرطانات، عبر استنساخ نباتات محوّرة وراثياً قادرة على إنتاج تلك الأدوية بكميات تجارية. أما على الصعيد الصناعي، فقد تم إنتاج خيوط حرير العنكبوت Spider Silk عبر التعبير عن جين حرير العنكبوت في الغدد الثديية لإناث ماعز معدّلة وراثياً، وبشكل يمكّن من جمع البروتين وتنقيته من الحليب. يمكن الاستفادة من بروتين الحرير المأشوب في تصنيع بزات عسكرية مقاومة للرصاص، إذ إن قساوة الحرير أعلى بخمس مرات من الفولاذ وهوفي الوقت نفسه مادة عديمة الوزن فعلياً ومتدرّكة حيوياً Biodegradable. وأطلق على حرير العنكبوت المنتج بهذه الطريقة بالفولاذ الحيوي BioSteel.

9.8. خاتمة.

تعرّفنا في هذا الفصل على الكثير من التقانات المستخدمة في علم الوراثة سواء تلك التي استخدمت في فهم الآليات الوراثية أم في التشخيص الجزيئي أو العلاجات الجينية. وعلى الرغم من أن الكثير من الغموض لا زال يكتنف كثيراً من آليات الوراثة الجزيئية، فقد استفدنا من المعرفة المتراكمة خلال العقود الماضية بشكل كبير لترجمة تلك المعرفة في التطبيقات الكثيرة لها، ومن أهمها إنتاج بروتينات علاجية غيّرت مسار العلاج للكثير من الأمراض المزمنة الشائعة.



(الشكل 8-25) دمج إضافة الجين مع الاستنساخ التكاثري لإنتاج هرمون النمو البشري في الغدد الثديية لإناث الماعز واستخلاص البروتين البشري من الحليب. 1. حقن مجهري لجين هرمون النمو البشري في بيضة مخصبة للماعز، 2. تطور البيضة المخصبة إلى جنين، 3. ولادة أنثى ماعز تفرز بروتين هرمون النمو البشري في الحليب، 4. نزع نواة خلايا جسدية لأنثى الماعز المحَورة وراثياً Transgenic وحقنها في بيضة مخصبة منزوعة النواة ونقل البيضة المخصبة الناتجة إلى رحم أم بديلة، تطوّرت فيها الأجنة، 6. إنتاج عدد كبير من إناث ماعز معدّلة وراثياً تفرز هرمون النمو في الحليب الذي يُجمع ويُعمل على تنقية هرمون النمو منه بوسائل مختلفة.

الفصل التاسع
المجين البشري
(Human Genome)

المحتويات Contents

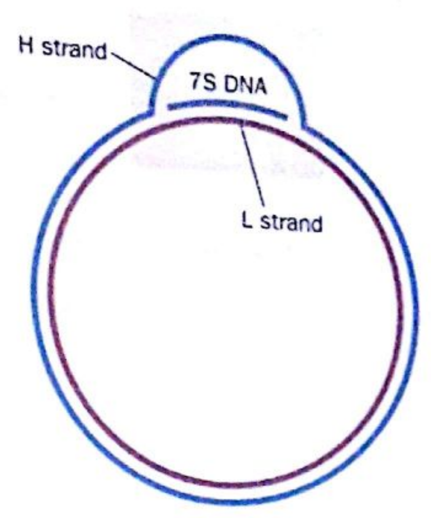
المجين (Genome) هو كامل بُنَى الدنا الموجودة في كائن حي بشقّيه الجينات المُرمِّزة للبروتين (Protein-encoding genes) والتسلسلات الأخرى من الدنا (DNA sequences) غير المُرمِّزة للبروتين. انتهى الباحثون في العام 2003 من سَلسَلة المجين البشري. يتألف المجين البشري النووي (Nuclear genome) من نحو26000 جين. فيما يحتوي المجين المتقدري (Mitochondrial genome) على37 جين. يُشكل المجين النووي الكتلة الرئيسية للمعلومات الجينية لدى الإنسان وتتوزع جيناته على 23 أو 24 صبغياً مختلفاً.

تملك المتقدرات المجين الخاص بها، وهو عبارةٌ عن جزيئ حلقي مفرد يُرمِّز لاصطناع بروتينات خاصةٍ بالمتقدرات. يجدر التنويه هنا إلى أن معظم بروتينات المتقدرات تُرمَّز من قِبَل الجينات النووية وتُصطنَع من قبل الريباسات الهيولية قبل انتقالها إلى المتقدرات. يُشكل التسلسل المُرمِّز للبروتين (-Protein coding DNA sequence) نحو 1.5 % من المجين البشري.

1.9. المجين المتقدري

يتألف المجين المتقدري من طاقين من الدنا يأخذان شكلاً حلقياً، ويبلغ طوله 16.6 كيلو من شفع الأسس (16.6 kilobases)؛ الطاق الثقيل (Heavy strand) ويُرمز له بـ: H غني بالغوانين، أما الطاق الخفيف (Light strand) ويُرمز له بـ: L غني بالستوزين. خلال تشكل الزيجوت تساهم النطفة بمجينها النووي دون المتقدري، ومن ثم فإن مصدر المتقدرات والمجين الموجود داخل الزيجوت أمومي المنشأ. تتضاعف المتقدرات وتتوزع في الخليتين البنتين بشكلٍ عشوائي خلال الانقسام الفتيلي (Mitosis). يتضاعف الدنا المتقدري باتجاه وحيد ابتداءً من موقع محدد يسمى CR/D-loop region (CR: control region, D-loop: displacement loop) (**شكل 9 – 1**). يتم اصطناع الطاق الثقيل أولاً باستخدام الطاق الخفيف كمِرْصَاف (Template) يتبعه اصطناع الطاق الخفيف باستخدام الطاق الثقيل كمِرْصَاف ولكن باتجاه معاكس لاصطناع الطاق الثقيل. يحوي الدنا المتقدري على 37 جين، 28 منها موجودة في الطاق الثقيل والباقي في الطاق الخفيف.

تتحكم عدة محضضات (Promoters) بانتساخ الجينات في الدنا المتقدري بشكلٍ مشابهٍ للدنا الجرثومي وعلى عكس الدنا النووي (إذ تملك كل جين محضضها الخاص بها).



(شكل9-1): يتألف الدنا المقدري من طاق ثقيل H وآخر خفيف L. يتوضع بين الطاقين شدفة (7S DNA) تحوي الكثير من التسلسلات المُنظِّمَة للتضاعف.

ينجم عن الانتساخ جزيئة RNA مؤلفة من عدة مُنتَسخات (Transcripts) لعدة جينات معاً، ليتم شطرها بعد ذلك إلى شدفٍ تمثل كل واحدةٍ منها جين واحدةً. تتوزع جينات الدنا المتقدري على النحو الآتي: 22 جين تُرَمِّز tRNA متقدري، جينتان تُرَمِّزان rRNA متقدري، 13 جين تُرَمِّز بروتينات السلسلة التنفسية والفسفرة التأكسدية في المتقدرات، حيث تُصطنع من قبل الريباسات المتقدرية (Mitochondrial ribosomes) **(جدول 9-1)**. يجب التنويه هنا إلى أن القسم الأعظم من بروتينات وإنزيمات السلسلة التنفسية وإنتاج الـ ATP تُصطنع من قبل الدنا النووي. يُلاحظ خلو الجينات في المتقدرات من الإنترونات (Introns)، كما يُلاحظ انضغاطها وتقاربها بعضها من بعض مقارنةً بالجينات في الدنا النووي.

(جدول9-1) : يُبيِّن مكونات المتقدرات والجينات المُرَمِّزة لها في المجين المتقدري والمجين النووي.

Mitochondrial component	Encoded by	
	Mitochondrial genome	Nuclear genome
Components of oxidative phosphorylation system	**13 subunits**	**80 subunits**
I NADH dehydrogenase	7	42
II Succinate CoQ reductase	0	4
III Cytochrome b–c_1 complex	1	10
IV Cytochrome c oxidase complex	3	10
V ATP synthase complex	2	14
Components of protein synthesis apparatus	**24 RNAs**	**79 proteins**
rRNA	2	0
tRNA	22	0
Ribosomal proteins	0	79
Other mitochondrial proteins	**0**	**All[a]**

يحوي الدنا المتقدري على 60 رامِزاً (Codon) تُرمِّز لأحماض أمينية و4 روامز موقفة للترجمة هي: UAA، UAG، AGA، AGG. الرامِزان الأول والثاني موقفان للترجمة في الدنا النووي أيضاً، بينما الرامِزان الثالث والرابع فيُرمِّزان للحمض الأميني أرجينين في الدنا النووي (**شكل 9-2**).

mtDNA variants									mtDNA variant
	AAA	Lys	CAA	Gln	GAA	Glu	UAA	STOP	
	AAG	Lys	CAG	Gln	GAG	Glu	UAG	STOP	
	AAC	Asn	CAC	His	GAC	Asp	UAC	Tyr	
	AAU	Asn	CAU	His	GAU	Asp	UAU	Tyr	
	ACA	Thr	CCA	Pro	GCA	Ala	UCA	Ser	
	ACG	Thr	CCG	Pro	GCG	Ala	UCG	Ser	
	ACC	Thr	CCC	Pro	GCC	Ala	UCC	Ser	
	ACU	Thr	CCU	Pro	GCU	Ala	UCU	Ser	
STOP	AGA	Arg	CGA	Arg	GGA	Gly	UGA	STOP	Trp
STOP	AGG	Arg	CGG	Arg	GGG	Gly	UGG	Trp	
	AGC	Ser	CGC	Arg	GGC	Gly	UGC	Cys	
	AGU	Ser	CGU	Arg	GGU	Gly	UGU	Cys	
Met	AUA	Ile	CUA	Leu	GUA	Val	UUA	Leu	
	AUG	Met	CUG	Leu	GUG	Val	UUG	Leu	
	AUC	Ile	CUC	Leu	GUC	Val	UUC	Phe	
	AUU	Ile	CUU	Leu	GUU	Val	UUU	Phe	

(شكل9-2) روامز الأحماض الأمينية والروامز الموقفة للترجمة في الدنا النووي وما يقابلها من الروامز في الدنا المتقدري. تم تظليل الروامز المختلفة بين المجينين النووي والمتقدري.

2.9. المجين النووي

يبلغ طول المجين النووي البشري نحو 3000Mb (1M=1000k)، ويتوزع على 23 أو 24 صبغي. يلتف الدنا النووي حول بروتينات تُدعى الهيستونات (Histons). يتألف المجين النووي من منطقتين واحدة غنية بالجينات الفعالة ذات معدل انتساخ عالٍ وتسمى بالكروماتين الحقيقي، وثانية تكون فيها الجينات غير مُفعّلة وغنية بتكرارات من تسلسلات الدنا تُدعى بالكروماتين المُغايِر. يتركز الكروماتين المغاير في مناطق القسيم المركزي من الصبغيات، ويكثر في الصبغيات: 1، 9، 16، 19، وفي الصِبْغِيّات طَرَفِيّة القُسَيم المَرْكَزي. يبقى الكروماتين المُغايِر متكثفاً خلال دورة الانقسام الخلوي.

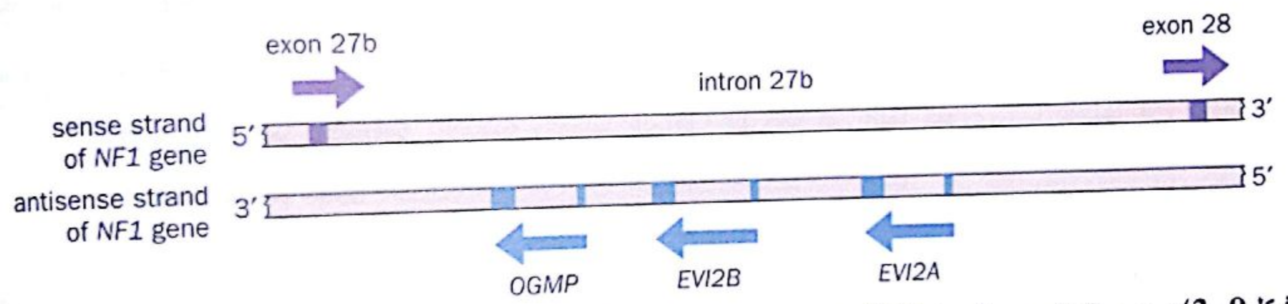
يحوي المجين البشري النووي نحو 20500 جين والعدد مرشح لتخطي 30000 جين والسبب في عدم إعطاء رقمٍ دقيقٍ لعدد الجينات هو وجود جينات الرنا (RNA genes) وصعوبة تحديدها.

2.9. 1. هندسة المجين البشري (أنظر الفقرة 2.3 في الفصل الثالث)

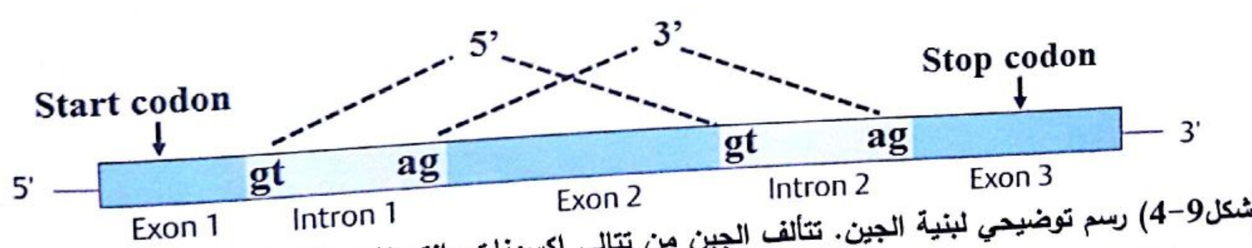
2.9. 2. الجينات المُرَمِّزَة للبروتينات

تختلف كثافة الجينات وعددها من صبغي لآخر، كما قد تختلف في الصبغي نفسه من منطقة لأخرى، وقد تتراكب أحياناً بعض الجينات كما هي الحال بالنسبة للجينات المُرمِّزة لمعقد التوافق النسيجي على الذراع القصير من الصبغي السادس. وفي بعض الأحيان قد تحوي جين كبيرةٌ مثل جين *NF1* (**Neurofibromatosis type1**) جينات أخرى بينها على الطاق الآخر (**شكل9-3**).

تختلف الجينات المُرَمِّزَة للبروتينات الموجودة في المجين النووي في حجمها، ولكنها تشترك في أنها مؤلفةٌ من إكسونات (Exons) وإنترونات (Introns). باستثناء قلةٍ من الجينات خالية من الإنترونات (**شكل9-4**). تُرَمِّز الإكسونات الأحماض الأمينية في السلسلة الببتيدية التي سيتم ترجمتها لاحقاً ابتداءً من الرنا المِرسال (mRNA)، فيما يتم إزالة الإنترونات من الرنا المِرسال الأولي بعملية التَّضْفير (Splicing) (**شكل 9-5**).



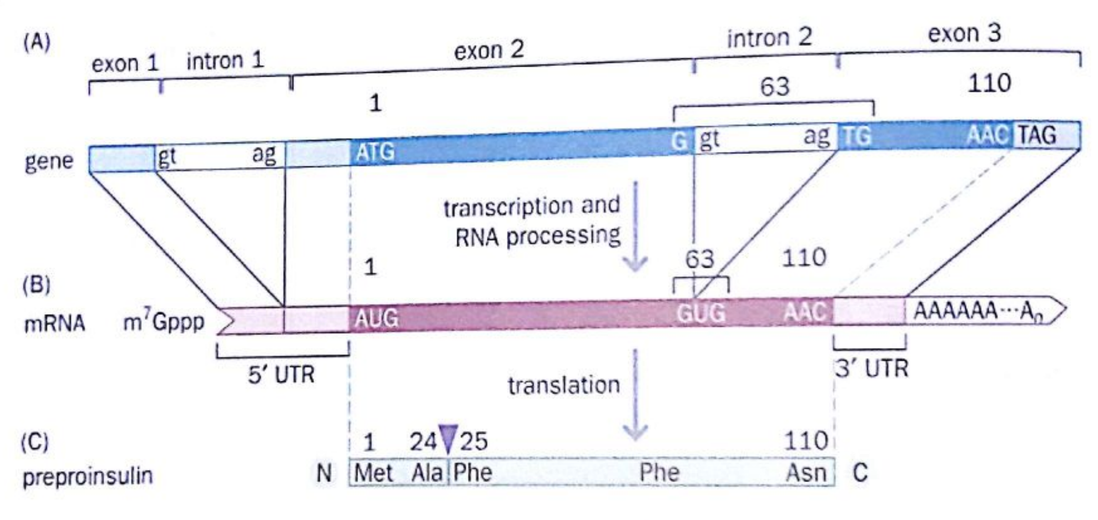
(شكل9-3): رسم توضيحي لجين *NF1*. تتوضع الجينات: *EVI2A* و*EVI2B* و*OGMP* في الإنترون 27b من الجين *NF1* ولكن بالاتجاه المعاكس على الطاق المقابل (Antisense strand).

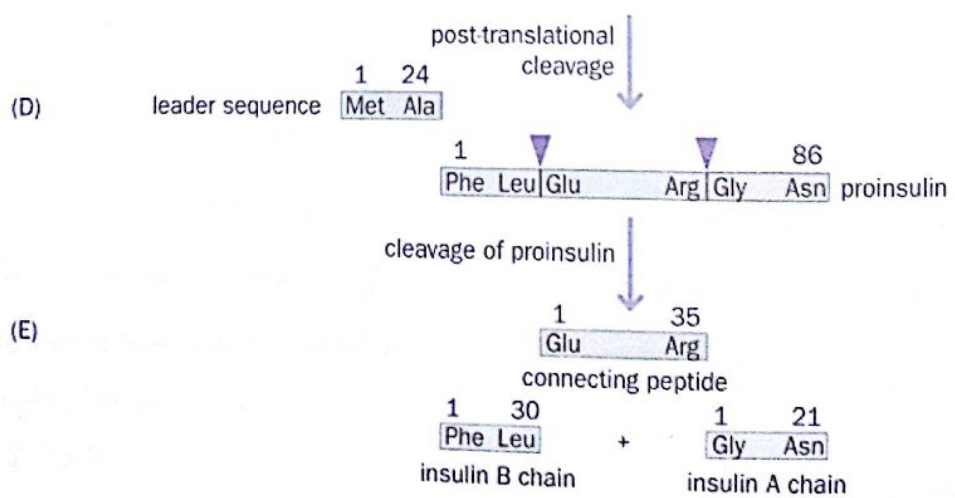


(شكل9-4) رسم توضيحي لبنية الجين. تتألف الجين من تتالي إكسونات وإنترونات. الإكسونات هي التي تُتَرجم لاحقاً إلى بروتينات. الطرف '5 يمثل بداية الجين (حيث زمرة الفوسفات)، والطرف '3 يمثل نهاية الجين (حيث زمرة الهيدروكسيل). غالباً ما يتوضع رامِز بداية الترجمة في الإكسون الأول، وغالباً ما يتوضع الرامِز الموقف للترجمة في الإكسون الأخير. نلاحظ أيضاً مواقع التضفير '5 و'3 في الإنترونات، غالباً ما يشغل هذه المواقع النوكليوتيدان gt في '5 والنوكليوتيدان ag في '3.

نورد فيما يلي مسميات تستخدم أحياناً لوصف جزء من الجينات:

- **عائلة الجينات (Gene family)**: هي مجموعة من الجينات تبدي شبهاً كبيراً فيما بينها في تسلسلاتها، مثل عائلات جينات الهيستونات (Histone gene families) وعائلات جينات ألفا وبيتا غلوبين (α-globin and β-globin gene families). أو هي مجموعة من الجينات جزءٍ يسيرٍ من تسلسلاتها يبدي شبهاً كبيراً فيما بينها، ويُرمِّز هذا التسلسل لمَيادين (Domains) معينة في البروتينات مثل (DEAD box motif Asp-Glu-Ala-Asp).
- **طائفة الجينات (Gene superfamily)**: تُعرَّف طائفة الجينات على أنها مجموعة من الجينات تُرمِّز لمنتجات مرتبط بعضها ببعض وظيفياً دون أن تبدي تلك الجينات في تسلسلاتها ذاك الشبه الكبير فيما بينها. مثال عنها طائفة الغلوبولينات المناعية Ig superfamily (Ig = immunoglobulin) والتي تملك ميادين مشابهة لتلك الموجودة في الغلوبولينات المناعية ولكنها تختلف عنها بوظيفتها المتمثلة في ارتباط الخلايا مع بعضها وتمييزها بعضها لبعض.

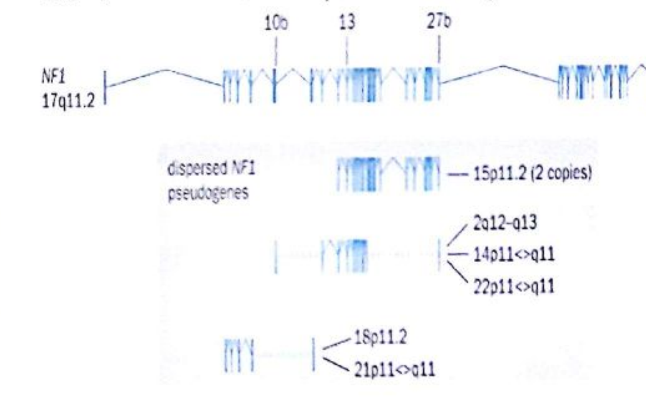




(شكل9-5): (A) تتألف جين الأنسولين من ثلاثة إكسونات وإنترونين. المنطقة التي ستترجم إلى سلسلة عديد الببتيد مُوضّحة بالأزرق الغامق. (B) الإكسون الأول وجزء من الإكسون الثاني يسمى بالمنطقة غير المترجمة من جهة '5

(5' Untranslated region: UTR). والجزء الأخير من الإكسون الثالث يسمى بالمنطقة غير المترجمة من جهة 3' (3'UTR). (C) يتألف سَلَفُ طَليعَةِ الأنْسُولين (Preproinsulin) من 110 حمض أميني؛ يُرْمَز للأحماض الأمينية بـ aa. (D) يتم شطر 24 حمضاً أمينياً من النهاية الأمينية لسلسلة عديد الببتيد التي تمثل التسلسل القيادي (Leader sequence) لتعطي طَليعَة الأنسولين (Proinsulin). (E) تُشطر طليعة الأنسولين لتعطي الببتيد الواصل والسلسلتين A وB. تتشكل جسور كبريتية ما بين السلسلتين A وB لاحقاً لتعطي الأنسولين الفعال.

- **الجينات الكاذبة (Pseudogene)**: هي جينات كاملة أو جزء من جينات (عدة إكسونات) مَعيبة (Defective) مماثلة لجينات أخرى وظيفية موجودة في المجين. يعود العيب في الجينات الكاذبة لخلوّها من بعض التسلسلات الوظيفية مثل الإنترونات أو التسلسلات ما قبل المحضض (Promoter) أو المحضض نفسه. يُوجد لجين *NF1* مثلاً عدة جينات كاذبة متوزعة على عدة صبغيات (**شكل9-6**). تضاربت الآراء حول الدور الوظيفي للجينات الكاذبة ولا سيما أن عدداً منها يُنتَسخ، إذ تقوم بعض المُنتسخَات بتنظيم التعبير الجيني للجينات الوظيفية المشابهة لها. تعطي جين *XIST* الموجودة في الصبغي X مُنتسخَات لا تُتَرجم إلى بروتين (noncoding RNA)، ولكنها تقوم بتَعْطيل أحد الصبغيين X لدى الأنثى.



(شكل9-6) تتوضع جين *NF1* الوظيفية على الصبغي السابع عشر وتتألف من 60 إكسوناً تم تمثيلها بخطوط دقيقة عمودية، فيما مُثِّلت الإنترونات بزوايا حادة مابين الإكسونات. توجد على صبغيات أخرى تسلسلات مشابهة إلى حدٍ كبير لجزءٍ من جين *NF1*.

2.9 .3. جينات الرنا

يزيد تعداد جينات الرَّنا عن 6000 جين في المجين البشري، تتميز عن الجينات المُرَمِّزة للبروتين بانتساخها لتعطي جزيئات RNA مختلفةً أطوالها دون ترجمتها إلى بروتينات. يُعدّ تحديد مكان جينات الرَّنا غير المُرَمِّز (noncoding RNA) (اختصاراً يُرمَز له بـ: ncRNA) للبروتين ضمن المجين البشري صعباً بالمقارنة مع الجينات المُرَمِّزة للبروتين. لقد أُثبِتَ الدور المهم لقسم من الرَّنا غير المُرَمِّز في الخلية الحية وبقي البحث قائماً لمعرفة وظيفة القسم الآخر لهذا النوع من الرَّنا. يمكن تصنيف ncRNAs بحسب وظيفتها ومكان التعبير عنها إلى:

- الرَّنا الناقل (Transfer RNAs) (اختصاراً يُرمَز له بـ: tRNAs): يتراوح طوله بين 70 و80 نُوكْلِيُوتيداً. يشارك في عملية فك الروامز في الرَّنا المِرسال (Messenger RNAs) (اختصاراً يُرمَز له بـ: mRNAs) وتصنيع السلاسل الببتيدية.

- الرِّنا الرِّيباسي (Ribosomal RNAs) (اختصاراً يُرمَز له بـ: rRNAs): يتراوح طوله بين 125 و5000 نُوكْلِيُوتيداً. يرتبط مع بروتينات ليشكل الرِّيباسات (Ribosomes). يُوجَد منه، بالإضافة إلى نمطين في المتقدرات، أربعة أنواعٍ هيولية.
- الرِّنا النووي الصغير (Small nuclear RNAs) (اختصاراً يُرمَز له بـ: snRNAs) يوجد في النواة ويتراوح طوله بين 60 و360 نُوكْلِيُوتيداً. يرتبط مع بروتينات ليشكل البروتينات النَوويّة الريبوزيّة الصغيرة (small nuclear ribonucleoprotein) (اختصاراً يُرمَز لها بـ: snRNPs): تُساهم هذه البروتينات في عملية تضفير جزيئات الرِّنا بعد انتساخها من الدنا. يقوم الرنا النووي الصغير بأدوارٍ أخرى غير التضفير، فمنها من يحفز إنزيم الانتساخ RNA polymerase ومنها من يتدخل في تضاعف الصبغيات وفي تنظيم انقسام الخلية.
- الرِّنا النُوَيِّي الصغير (Small nucleolar RNA) (اختصاراً يُرمَز له بـ: snoRNA): يتراوح طوله بين 60 و300 نُوكْلِيُوتيداً، يعمل على إنضاج الرنا الريباسي.
- الرِّنا المكروي (MicroRNA) (اختصاراً يُرمَز له بـ: miRNA): طوله نحو22 نُوكْلِيُوتيداً. يملك دوراً مهماً في تنظيم التعبير الجيني.
- Piwi–binding RNA: (اختصاراً يُرمَز له بـ: piRNA): يتراوح طوله بين 24 و 31 نُوكْلِيُوتيداً. يُعبَّر عنه فقط في الخلايا المُولِّدة للأعراس، ويحدُّ من تشكُّل اليَنقُوْل (Transposon) (أنظر أدناه).
- الرِّنا التداخلي القصير داخلي المنشأ (Endogenous short interfering RNA) (اختصاراً يُرمَز له بـ: endo–siRNA): يتراوح طوله بين 21 و 22 نُوكْلِيُوتيد. يُعبَّر عنه من قبل الجينات الكاذبة غالباً، ويؤدي دوراً مهماً في تنظيم التعبير الجيني.
- الرِّنا غير المُرَمِّز الطويل (Long noncoding RNA) (اختصاراً يُرمَز لها بـ: LncRNA): يجاوز طوله الـ 1000 نُوكْلِيُوتيداً. يؤدي دوراً مهماً في تنظيم التعبير الجيني. مثاله الجين *XIST* التي تؤدي دوراً أساسياً في تعطيل أحد الصبغيين X لدى الأنثى.

2.9. 4. تتاليات الدنا المتكررة

تتالي الدنا المتكرر هو تسلسل من النُوكْلِيُوتيدات يتراوح طوله بين نُوكْلِيُوتيدين حتى 200، ويتكرر هذا التسلسل عدداً قليلاً أو كثيراً من المرات. تنتشر الكثير من هذه التتاليات في المجين النووي في مناطق خارج الجينات. وقد توجد هذه التتاليات في الإنترونات وأحياناً في الإكسونات كما هي الحال بالنسبة للجين *LPA* المُرمِّزة للبروتين الشحمي (a) Lp. تُسمى عادةً هذه التتاليات بالتكرارات التَّرادُفيَّة (Tandem repeats). تكثر التسلسلات المتكررة في مناطق الكروماتين المُغايِر. نذكر من هذه التسلسلات satellite DNA و minisatellites وmicrosatellites **جدول (9–2)**. لم يُعرف الكثير

عن وظيفة التسلسلات المتكررة في الدنا. يؤدي أحد أنواع التكرارات α-satellite، وهو من عائلة satellite DNA، دوراً مهماً في وظيفة القسيم المركزي للصبغيات لدى الإنسان حيث يتواجد فيها. كما تبيّن أن لـ minisatellites دوراً مهماً في الحفاظ على القسيم الطرفي في الصبغيات.

اسم التكرار	حجم التكرار الكلي	حجم وحدة التسلسل الموجودة في التكرار الكلي	مَوْضِع التسلسل ضمن الصبغي
Satellite DNA	Kb 100<	bp 171 -10 ~	الكروماتين المُغايِر
Minisatellite DNA	Kb 20 -0.1 ~	bp 64 -6 ~	القُسيمات الطرفية للصبغيات
Microsatellite DNA	bp 100>	bp 4 -1	منتشر في الصبغيات كلها

(جدول 9-2) يوضح الجدول الفرق بين ثلاثة أنواع من التتاليات في الـ DNA هي: satellite وminisatellites وmicrosatellites. Kb هي وحدة قياس طول التسلسل في الدنا، وتعني ألف شفع من الأسس، وbp تعني شفع من الأسس.

2.9 .5. العناصر الانتقالية أو الينقول (Transposon)

يُوجد في المجين البشري النووي تكرارات لتسلسلات من الدنا غير مُرمِّزة تدعى باليَنقُول أو تُدعى بالعناصر الانتقالية (Transposable elements). سُميّت بذلك لتنقُّلِها ما بين مناطق مختلفة من المجين. مع العلم أن الكثير من هذه العناصر قد فقد قدرته على الانتقال. تمكن الباحثون من تحديد عدة أنواعٍ من هذه العناصر الانتقالية: LINEs (Long interspersed nuclear elements)، SINEs (Short interspersed nuclear elements)، LTRs (Long terminal repeats)، عناصر DNA (**الجدول9-3**).

- يتألف الـ LINEs من ثلاث عائلات:LINE-1 وLINE-2 وLINE-3. تشكل هذه العائلات مجتمعةً نحو 21% من المجين. تتوضع بشكل رئيسي في مناطق الكروماتين الحقيقي. يعد LINE-1 (اختصاراً L1) قادراً على الانتقال كونه يُرمِّز لإنزيمات تملك فعالية المُنتَسِخَة العَكْسِيَّة (Reverse transcriptase) والنوكلياز الداخِلِيَّة (Endonuclease). يؤدي L1 دوراً في انتقال عناصر انتقالية أخرى مثل SINEs، وكذلك في تشكيل الجينات الكاذبة حتى في نشوء بعض الأمراض الوراثية إذا ما أُقحِم عنصر انتقالي في بنية جين ما.
- لا يُرمِّز الـ SINEs أي بروتين ومن ثم لا يمكنه الانتقال وحده. يحوي SINEs عائلات عدة منها: عائلة Alu، وهي أكثرها وفرةً ضمن SINEs، وتنتشر في مناطق الكروماتين الحقيقي، وعائلة MIR (Mammalian-wide interspersed repeat).

Element Type	Length	Copies in Genome	% of Genome
LINEs	1–6 kb	850,000	21
SINEs	100–500 bp	1,500,000	13
LTR Elements	<5 kb	443,000	8
DNA Elements	80–300 bp	294,000	3

(الجدول9-3) العناصر الانتقالية في المجين البشري. يُلاحظ الفرق بينها في الحجم، وعدد نسخها في المجين، ونسبة ما تشكله من المجين.

3.9. تغيّر تسلسل النُوكْلِيُوتيدات أو الطفرة

الطفرة (Mutation) هي تغير في تسلسل النُوكْلِيُوتيدات في جزيئ الدنا بشكل دائم. قد تحدث الطفرات بغياب العوامل المُطَفِّرة وفي هذه الحالة تسمى الطَفْرَة التِلْقائِيَّة (Spontaneous mutation). تضاعف الدنا ليس بالعملية التي يتم إنجازها بدقة مطلقة بالرغم من وجود كثير من إجراءات الوقاية والمراقبة. وبالتالي فاحتمال الخلل في أحد النُوكْلِيُوتيدات واردٌ. وإذا ما أضفنا العوامل الخارجية مثل العوامل الكيميائية والإشعاعية كالأشعة فوق البنفسجية (Ultraviolet light) فإن احتمال التغيّر في تسلسل النُوكْلِيُوتيدات يزداد بشكلٍ ملحوظ. يُدعى العامل الذي يسبب الطفرة بالمُطفِّر (Mutagen). يتراوح حجم الطفرة من تغيّر في نُوكْلِيُوتيد واحد، وتسمى عندها الطَفْرَة النُقْطِيَّة (Point mutation)، إلى أذية كبيرة تصيب الصبغي، وتسمى بالزَيغ الصِّبْغِي (Chromosome aberration). يمكن أن تحدث الطفرة في أي مكان من المجين. وبما أن الدنا البشري في معظمه لا يرمز أي منتج، فإن الكثير من الطفرات قد لا تحمل أي تأثير على النمط الظاهري أو وظائف الخلية. على العكس من ذلك فإن الطفرات التي تصيب إكسوناً ما في جين ما قد تغير من منتج الجين تلك، مما قد يسبب تبدلاً كبيراً في النمط الظاهري.
يعتمد فهم الأساس الحيوي لاعتلال وراثي على معرفة الجين المسؤولة عن ذاك الاعتلال وتحديد النتائج المترتبة على الطفرات في تلك الجين. عندما تحدث الطفرات في خلايا الجسم يطلق عليها اسم الطَفْرَة الجَسَدِيَّة (Somatic mutation). هذا النوع من الطفرات لا ينتقل إلى الذُريّة، بينما تنتقل الطفرات التي تحدث في الخَلاَيا الجِنْسِيَّة (Germ cells) المولدة للأعراس من جيل لآخر وتسمى بطَفْرَة الخَلِيَّةِ الجِنْسِيَّة (Germinal mutation).

3.9. 1.تصنيف الطفرات في الجينات البنيوية

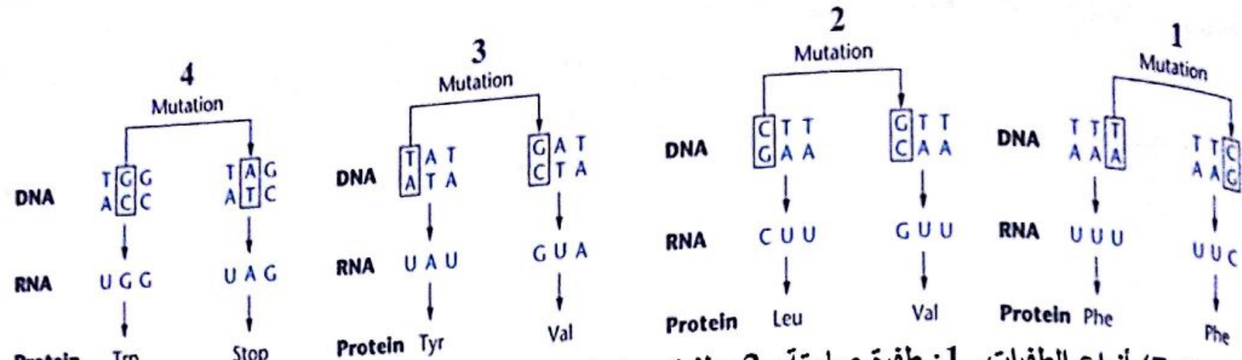
3.9. 1.1. التصنيف الجزيئي للطفرات

يعتمد التصنيف البسيط لطفرات استبدال النُوكْلِيُوتيدات على المجموعة التي ينتمي إليها النُوكْلِيُوتيد المُسْتَبْدَل. حيث تصنف الأسس النوكليوتيدية الداخلة في تركيب الدنا وبحسب التشابه في بناها الكيميائية إما ضمن مجموعة البُورِينات (Purines) وتضم الأَدِنين والغوانين، وإما ضمن مجموعة البِيريميدينات (Pyrimidines) وتضم السِّيتُوزين والثيمين. يطلق على الطفرة مسمى الطفرة الانتقالية (Transition mutation) إذا ما تم استبدال الأدنين بغوانين أو السيتوزين بثيمين في جزيئة الدنا. وأما إذا ما حدث

استبدال لنُوكْلِيُوتيدبوريني بآخر بيريميديني أو بالعكس فتسمى الطفرة حينها بالطفرة التبادلية (Transversion mutation). وعادة ما نجد أن تكرار الطفرة من النوع الانتقالي هو أكثر حدوثاً من النوع التبادلي.

يؤدي استبدال نُوكْلِيُوتيد بآخر ضمن المنطقة المُرمِّزة في جين ما إلى استبدال الرامِز بأخرى في الرنا المِرسَال الذي قد يؤدي إلى إدخال حمضٍ أمينيٍ مكان آخر في البروتين. يشير مصطلح الرامِز إلى النوكليوتيدات الثلاثة في الرنا المِرسَال التي تحدد حمضاً أمينياً أو تحدد إيقافاً للترجمة. تعمل مجموعة النوكليوتيدات الثلاثة على مستوى الدنا كمرصاف من أجل انتساخ الرنا المِرسَال. تعتمد نتائج الاستبدال في رامِز ما على: نوع النوكليوتيد المُستَبْدَل ونوع الرامزة الجديدة الناتجة ومكانها في تسلسل الرنا المِرسَال وعوامل أخرى. وبشكل عام يمكن تصنيف الطفرات إلى: طَفْرَة صامِتَة (Silent mutation)، طَفْرَة مُحَايِدَة (Neutral mutation)، طَفْرَة مُغَلِّطَة (Missense mutation)، طَفْرَة هُرَائِيَّة (Nonsense mutation)، طَفْرَة انْزِياحِ الإطار (Frameshift mutation)، طفرة الموقع التضفيري (Splice site mutation).

- **الطَفْرَةُ الصامِتَة:** تدل على استبدال النُوكْلِيُوتيد في رامِز الدنا دون أن يكون هناك استبدال للحمض الأميني على مستوى البروتين (**شكل9-7**). إذ إن عدداً من الرَّوامِز في بعض الأحيان تُرمِّز حمضاً أمينياً واحداً.
- **الطَفْرَةُ المُحَايِدَة:** يتم فيها استبدال نُوكْلِيُوتيد بآخر على مستوى الدنا يتبعه استبدال حمض أميني بآخر على مستوى البروتين. لكن هذا الاستبدال لا يؤدي إلى فقد ملحوظ في وظيفة البروتين (**شكل9-7**). غالباً ما نشاهد هذا الاستبدال في الجزء غير المهم وظيفياً بالنسبة للبروتين، أو إذا ما كان الحمض الأميني المُستبَدَل يملك خواص فيزيائية وكيميائية مشابهة للحمض الأميني الطبيعي كما هي الحال لدى استبدال الفالين (Valine) باللوسين (Leucine).
- **الطَفْرَةُ المُغَلِّطَة:** هي استبدال نوكليوتيد بآخر على مستوى الدنا يتبعها استبدال حمض أميني بآخر على مستوى البروتين (**شكل 9-7**) تعتمد خطورة الطفرة المُغَلِّطَة على طبيعة الحمض الأميني المُستبَدَل وفيما إذا كان هذا الحمض الأميني يشغل موقعاً مهماً في بنية البروتين أم لا. يمكن اعتبار الطفرة المُحَايِدَة طفرةً مُغَلِّطَةً ولكن بدون عواقب ملحوظة.
- **الطَفْرَة الهُرَائِيَّة:** تحدث عندما يتم استبدال نوكليوتيد بنوكليوتيد آخر مما يؤدي لتحول الرامِز المحددة لحمضٍ أمينيٍ ما إلى رامزة موقفة للترجمة (Codon stop) (**شكل 9-7**). يسبب وجود رامزة باكرة موقفة للترجمة (Premature termination codon) إلى تدرك الرنا المِرسال بواسطة آلية تسمى NMD (Nonsense-Mediated Decay)، ومن ثم لن يكون هناك منتج لتلك الجين الحاملة لمثل هذه الطفرة. قد تؤدي الطفرة الهُرَائِيَّة في حالات قليلة، إذا كان مكان حدوث الطفرة في الإكسون الأخير، إلى إنتاج بروتين مبتور.



(شكل9-7) أنواع الطفرات. 1: طفرة صامتة، 2: طفرة محايدة، 3: طفرة مُغَلِّطَة، 4: طفرة هرائية. تَرْمُز الأحرف الثلاثية في أسفل الشكل إلى أحماض أمينية متنوعة.

- **طَفَرَة انْزِياحِ الإطار:** عندما يتم حذف / إقْحَام زوج واحد من الأسس (نوكليوتيد واحد) في منطقة مُرَمِزِةٍ في تسلسل الدنا فإن تسلسل (ثلاثيات) الرامزة التالية لمنطقة الحذف أو الإقحام سيتغير وسينتج لدينا تسلسل جديد من الأحماض الأمينية على مستوى البروتين لا تشبه أبداً البروتين الأصلي (**شكل9-8**). يدعى هذا النوع من الطفرات بطَفَرَة انْزِياحِ الإطار. ينشأ في هذا النوع من الطفرات عاجلاً أم آجلاً طفرة هرائية بعد مكان الحذف / الإقْحَام تؤدي كما ذكرنا سابقاً إلى إنتاج بروتينٍ مبتورٍ(**شكل 9-9**). تملك طَفَرَة انْزِياحِ الإطار تأثيراً مريعاً بالنسبة لوظيفة البروتين حيث تؤدي إلى تصنيع بروتين مبتور ومختلفٍ عن ذاك الطبيعي. إذا ما حدثت الطفرة قرب النهاية الكربوكسيلية للبروتين فقد يحتفظ البروتين الجديد الناشئ ببعض الفعالية الحيوية.
- **طفرة الموقع التضفيري**: تعتمد إزالة الإنترونات من تسلسل الرنا المِرسال الأولي (Primary mRNA) على وجود نوكليوتيدات معينة في مواقع محددة تُدعى مواقع التضفير(Splice site). يتألف موقع التضفير '5 من النوكليتيدين gt، ويقع في بداية الإنترون بعد الإكسون. يتألف موقع التضفير '3 من النوكليتيدين ag ويقع في نهاية الإنترون قبل الإكسون (**شكل 9-4**). تعتمد عملية التضفير بشكلٍ كبير على هذه المواقع، فإذا ما تغير تسلسل تلك النوكليوتيدات في مواقع التضفير بسبب طفرةٍ فإن آلية التضفير سوف تخطئ وسيحدث تضفير غير طبيعيٍ للرنا المُنتَسِخ. فمثلاً إذا ما حدثت طفرة في الموقع التضفيري '3 فإن آلية التضفير قد تتخطى هذا الموقع إلى الموقع الذي يليه وسيتم حذف كامل الإكسون المحاط بالإنترونين من الرنا المُنتَسِخ والنتيجة النهائية هي رنا مرسال منقوص الإكسون (**شكل 9-10**). يسمى هذا الشكل الشاذ من عملية التضفير بتخطي الإكسون (Exon skipping).

وبشكل مماثل إذا ما حدثت طفرة في الموقع التضفيري '5 فإن آلية التضفير قد تتجاهل هذا الموقع مما يؤدي إلى إبقاء الإنترون في الرنا المُنتَسَخ الناضج، والنتيجة النهائية هي رنا مرسال يحوي إنتروناً كجزءٍ منه (**شكل9-10**).

A: الحالة الطبيعية. نلاحظ تسلسل الأحماض الأمينية حسب الروامِز الموافقة.

A

DNA	TTA AAT	TTT AAA	CGT GCA	TGG ACC	TGT ACA	GTA CAT	CCC GGG	GGG CCC
RNA	UUA	UUU	CGU	UGG	UGU	GUA	CCC	GGG
Protein	Leu	Phe	Arg	Trp	Cys	Val	Pro	Gly

B: طَفْرَة انْزِياحِ الإطار ناجمة عن إقحام زوج من الأسس. نلاحظ تغير تسلسل الأحماض الأمينية بسبب تغير الروامِز في الدنا والرنا المِرسال.

B

T
A
↓

DNA	TTT AAA	ATT TAA	TCG AGC	TTG AAC	GTG CAC	TGT ACA	ACC TGG	CGG GCC	G C
RNA	UUU	AUU	UCG	UUG	GUG	UGU	ACC	CGG	G
Protein	Phe	Ile	Ser	Leu	Val	Cys	Thr	Arg	

C: طَفْرَة انْزِياحِ الإطار ناجمة عن حذف زوج من الأسس. نلاحظ تغير تسلسل الأحماض الأمينية بسبب تغير الروامِز في الدنا والرنا المِرسال.

C

A
T
↑

DNA	TTT AAA	TTC AAG	GTT CAA	GGT CCA	GTG CAC	TAC ATG	CCG GGC	GG CC
RNA	UUU	UUC	GUU	GGU	GUG	UAC	CCG	GG
Protein	Phe	Phe	Val	Gly	Val	Tyr	Pro	Gly

(شكل 9-8) رسم يوضح نتائج طَفْرَة انْزِياحِ الإطار.

A: حالة بروتين طبيعي. نلاحظ تتالي الأحماض الأمينية بشكلٍ موافقٍ للروامِز في الرنا المِرسال.

A

DNA	TTA AAT	CCG GGC	GTA CAT	ATG TAC	TGG ACC	GTA CAT	CCC GGG	GGG CCC
RNA	UUA	CCG	GUA	AUG	UGG	GUA	CCC	GGG
Protein	Leu	Pro	Val	Met	Trp	Val	Pro	Gly

B: حالة حدوث طفرة انزياح الإطار وتشكل الرامزة الموقفة للترجمة (UAA) بشكلٍ مبكر. نلاحظ تغيّراً في تسلسل الأحماض الأمينية قبل توقف الترجمة عند الرامزة (UAA).

B

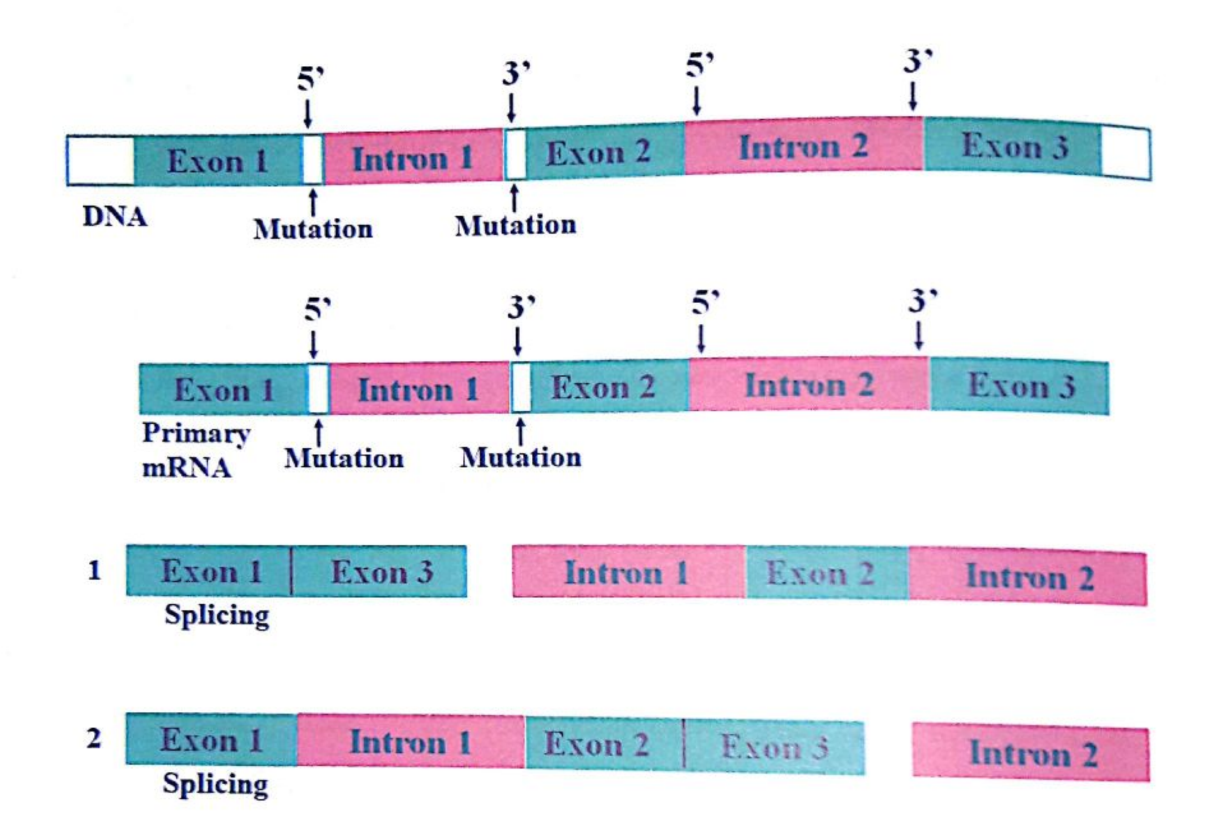
A
T
↑

DNA	TTC AAG	CGG GCC	TAA ATT	TGT ACA	GGG CCC	TAC ATG	CCG GGC	GG CC
RNA	UUC	CGG	UAA	UGU	GGG	UAC	CCG	GG
Protein	Phe	Pro						

(شكل 9-9) يوضح إنتاج بروتين مبتور نتيجة حدوث طفرة من نوع انزياح الإطار.

وفي كلتا الحالتين عندما تحدث الطفرات في المواقع '5 و'3 فإن الرنا المِرسال الناضج سيحتوي على تسلسل غير ذاك المُرمِّز للبروتين الحقيقي.

يمكن أن تؤدي الطفرات إلى خلق مواقع تضفيرية إضافية جديدة مما قد يتسبب في إدخال جزء من الإنترون أو حذف جزء من الإكسون في تسلسل الرنا المِرسال، يتبعه انزياح في إطار القراءة وفي نهاية المطاف سينتج ذاك البروتين الشاذ والمبتور.



(شكل 9-10): عقابيل تأثير الطفرات في المواقع التضفيرية '3 و'5 على عملية التضفير التي يخضع لها الرنا المِرسال الأولي. (1) قد تؤدي الطفرة في موقع التضفير '3 إلى خطأ في التضفير وفقد للإكسون الثاني. (2) قد تؤدي الطفرة في موقع التضفير '5 إلى خطأ في التضفير وكسب للإنترون الأول.

3.9. 1.2. تصنيف الطفرات بناءً على تأثيرها

تصنَّف الطفرات بناءً على تأثيرها في الخلية أو على النمط الظاهري للكائن الحي إلى:

- **طفرة فقد الوظيفة (Loss-of-function mutation)**: يُقصد بها إصابة الجين بأي نوع من الطفرات التي ذكرناها سابقاً، وتؤدي إلى تناقص وظيفة منتج تلك الجين أو حتى زوال الوظيفة نهائياً. وفي حال زوال الوظيفة بالكامل يطلق على الطفرة مسمى Null mutation. قد يؤدي النقص في كمية منتج أحد الأليلين في الكائنات الحية الضِعْفانيَّة (Diploid)، على افتراض أن

كل أليل ينتج 50% من البروتين المُرمَّز بتلك الجين، إلى عدم ظهور النمط الظاهري البَرّي (Wild-type phenotype) أو ما يسمى بقصور الفردانية (Haploinsufficiency).

- **طفرة كسب الوظيفة (Gain-of-function mutation)**: هي طفرة تؤدي إلى إنتاج بروتين جديد ذي فعاليةٍ أكبر أو مغايرة للبروتين الأصلي. أو طفرة تصيب المنطقة المُنظِّمة للجين مما يؤدي إلى زيادة في التعبير عن تلك الجين ومن ثم إنتاج بروتين بكميات أكبر من المستوى الطبيعي، أو إنتاج بروتين في فترات زمنية غير ملائمة.
- **الطفرة السائدة السلبية (Dominant-negative mutation)**: تصيب الطفرة أحد الأليلين ولكن الذي يحدث أن المُنتَج البروتيني الطافر لا يعمل بمفرده، فإمّا أنه يرتبط مع منتج الأليل الثاني الطبيعي وومن ثم يُنقص من فعاليته، أو أنه يدخلُ في ارتباطات مع بروتينات أخرى ومن ثم يُنقِص من فعاليتها (**شكل 9-11**).
- **الطَفَرَة المُمِيْتَة (Lethal mutation)**: يحدث أن تسبب الطفرة توقفاً لعملية حيوية أساسية لحياة الكائن الحي مما يؤدي إلى موته. تُلحظ مثل هكذا طفرات في المرحلة الجنينية.

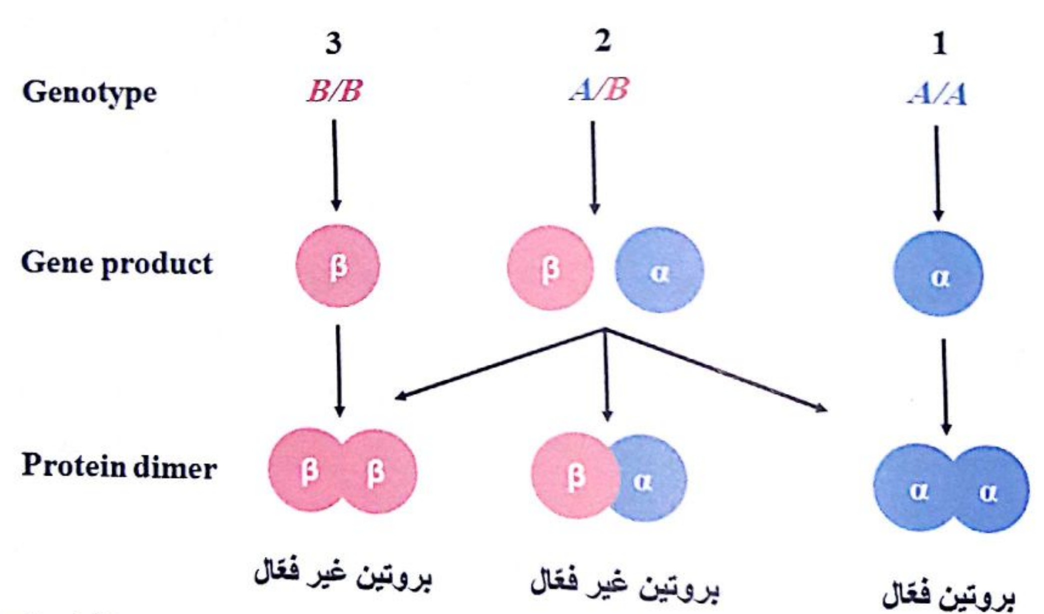
2.3.9. مفهوم السيادة والتنحي للطفرات وعلاقته بالأمراض الوراثية

إن التنحي والسيادة هما صفتان للنمط الظاهري وليس للجين مع أنه من الشائع استخدام هاتين الصفتين لوصف الجينات. تملك معظم الطفرات تأثيراً متنحياً، أي أن الأشخاص لديهم أليل سائد فعّال وأليل متنحٍ غير فعَّال، وومن ثم تُصطَنع كميةٌ مناسبةٌ من منتج الجين الوظيفي ويبقى النمط الظاهري طبيعياً. أما في حال كان الأشخاص مُتَمَاثلي الألائل (Homozygous) أي لديهم أليلان طافران أو متنحيان، فإن غياب منتج الجين الوظيفي سيؤدي إلى ظهور نمطٍ ظاهريٍ شاذٍ. يوجد كثير من الأمراض الوراثية التي هي بالأساس ناجمةٌ عن أليلٍ واحدٍ سائدٍ. ومن هنا يُطرَح السؤال التالي: كيف يمكن لأليل واحدٍ أن يسبب تأثيراً مؤذياً في ظل وجود أليلٍ آخر طبيعي؟

يمكن الإجابة عن هذا السؤال من عدة محاور:

- إن الطفرة التي تغيِّر من كمية المنتج لجين ما زيادةً أو نقصاناً عندما تكون كامل أو معظم كمية ذاك المنتج مطلوبةً من أجل الحصول على فعاليةٍ طبيعيةٍ في الخلية تملك تأثيراً سائداً. يمكن للطفرات أنواعها المختلفة التي ذكرناها سابقاً أن تقلل من المنتج الوظيفي للجين. كما قد تنقص التغيرات الجينية الحاصلة في العناصر التي تؤثر في تعبير الجين من معدل الانتساخ والنتيجة خفض المنتج الوظيفي للجين. نذكر أيضاً حذف الأليل الكامل (Null allele) وفي هذه الحالة فإن الأشخاص متخالفي الألائل (Heterozygous) سيكون لديهم نصف كمية المنتج الجيني مقارنةً بالأشخاص الذين يملكون أليلين طبيعيين. وفي حالات أخرى قد تسبب التغيرات الجينية في العناصر المؤثرة في انتساخ الجين زيادة في الانتساخ وفي كمية المنتج الوظيفي.

- قد نحصل على التأثير السائد عندما تؤدي الطفرة لاصطناع منتجٍ جديدٍ يملك تأثيراً ضاراً.
- تتألف بعض البروتينات الفعّالة من اتحاد وُحَيْدَات عدة (Multiple subunits). قد تُرَمَّز هذه الوُحَيْدَات من قبل موقع جيني واحدٍ أو من من قبل عدة مواقع جينية. هنا تعزى الحالة السائدة إلى وجود طفرة في إحدى الوُحَيْدَات، ومما سيؤثر بشكلٍ مباشرٍ في وظيفة البروتين الداخلة في تكوينه. وبحساب نظريٍ لدى الشخص متخالف الألائل فإن الأليل الطبيعي سينتج بروتيناً طبيعياً والأليل الطافر سينتج بروتيناً طافراً، ولدى اجتماع بعضهما مع بعض ليكونا البروتين الوظيفي فإن ما نسبته أقل من 50 % فقط سيشكل البروتين الوظيفي الفعَّال **(شكل9-11)**.
- قد ينجم التأثير الضار بسبب طفرةٍ في أليلٍ يُنتِج بروتيناً شاذاً لا يتدرك بسهولةٍ أو لا ينحل في الماء، ومن ثم فإنّ تراكمه في الخلية سيؤدي بالضرورة إلى أذيتها.
- تؤدي بعض حوادث الإزفاء ما بين الصبغيات إلى اندماج جزأين من جينتين مختلف بعضهما عن بعض ينجم عنه بروتينٌ خيمريٌ (Chemiric protein) يملك وظائف مختلفة عن تلك الطبيعية لكلا منتجي الجينتين.



(شكل 9-11): مثالٌ عن التأثير السائد السلبي.(1) شخص نمطه الجيني طبيعي *A/A* ينتج وُحَيْدَات (Subunits) طبيعية (α) تشكل لدى اجتماع بعضها مع بعض بروتين فعّال مكوّن من مثنوي (Dimer). (2) شخص نمطه الجيني متغاير الألائل *A/B*، إذ يُمثِّل الأليل *B* الأليل الطّافر. يُنتِج الأليل *B* وُحَيْدَات طافرة (β). تشكل الوُحَيْدَات لدى اجتماع بعضها مع بعض إما بروتيناً فعّالاً مكوّناً من مثنوي (α،α)، وإما بروتيناً غير فعّال مكوّناً من اجتماع وُحَيْدَتين (α) و(β)، وإما بروتيناً غير فعّال مكوّناً من اجتماع وُحَيْدَتين (β).(3) شخص نمطه الجيني متماثل الألائل *B/B* ينتج وُحَيْدَات طافرة (β) لا يتشكّل لديه إلاّ بروتينات غير فعالة. نستنتج أن البروتين β مُنتَج الأليل *B* الطافر هو المسؤول عن التأثير السائد السلبي (Dominant

negative effect) لأن نسبة البروتين الفعّال نظرياً أقل من 50 % وهي غير كافية لإنتاج نمطٍ ظاهريٍ طبيعيٍ.

3.3.9.التسمية الاصطلاحية للطفرات

لقد أتاح توفر التسلسل الكامل لكل من الجينات الطبيعية منها والطافرة وتسلسل البروتينات الفرصة لوضع نظام عام وموجز من أجل تسمية الطفرات وتمييزها عن التسلسل الطبيعي على مستوى جزيئ الدنا والبروتين.

تمت تسمية وترقيم البروتين ابتداءً من الحمض الأميني الأول في السلسلة الببتيدية وهو المثيونين (Methionine) وانتهاءً بالحمض الأميني الأخير في النهاية الكربوكسيلية من السلسلة نفسها.

وأما ترقيم النوكليوتيدات في جزيئ الدنا أو الرنا المُنتَسخ فهو ليس بالوضوح الذي عليه بالنسبة لجزيئ البروتين، ذلك أنّ النوكليوتيد الأول (ذا الرقم +1) في بداية الانتساخ ليس هو دائماً النوكليوتيد الأول المترجم. كما يجب التمييز بين النوكليوتيدات الموجودة في الإكسونات وتلك الموجودة في الإنترونات. تحمل عادةً النوكليوتيدات أرقاماً تسلسلية ابتداءً بالرقم +1 للنوكليوتيد الأول المُنتَسخ حتى آخر نوكليوتيد في الإكسون الأول. ثم تعطى بقية النوكليوتيدات في الإكسونات الباقية في الجين أرقاماً تسلسلية.

تعطى الإنترونات في ترقيمها رقمين اثنين، إذ يشير الأول إلى رقم النوكليوتيد في الإكسون في المنطقة المُرَمِّزة والرقم الثاني إلى رقم النوكليوتيد في الإنترون الذي يليه. مثلاً يشير الرقم 100 + 7 إلى النوكليوتيد السابع في الإنترون الذي يلي النوكليوتيد رقم 100 في المنطقة المُرَمِّزة. وقد تستخدم إشارة (–) في بعض الأحيان للدلالة على موقع النوكليوتيد في الإنترون الذي يسبق موقع النوكليوتيد في المنطقة المُرَمِّزة. مثلاً يشير الرقم 201–12 إلى النوكليوتيد 12 في الإنترون الذي يسبق النوكليوتيد رقم 201 في المنطقة المُرَمِّزة.

يشار إلى الطفرة في المنطقة المُرَمِّزة بحروف وأرقامٍ.

- **طفرة الاستبدال:** يدل الرمز التالي: A←T عند 279 على أن نوكليوتيد الأدنين في الجين الطبيعية في الموقع 279 قد تم استبداله بالثيمين في الجين الطافرة. بقي أن نذكر أن الترقيم هذا يُعطى فقط للطاق المُرَمِّز. كما يمكن أن يستعمل جزء من اسم الجين لدى استخدام الترقيم. مثلاً يعني الرمز *FGFR3*1138A* أن هذا الأليل من تلك الجين يملك الأدنين في الموقع 1138.
- **طفرات إنزياح الإطار:** يُعبَّر عنها على مستوى الدنا وليس على مستوى البروتين. يُشير الرمز 351delAT إلى أن خَبناً del حدث في المنطقة المُرَمِّزة للجين طال الأدنين في الموقع 351 والنوكليوتيد التالي له وهو الثيمين. يشير الرمز 106insT إلى أن ثمالة ثيمين قد أُقحمت بعد النوكليوتيد الحامل للرقم 106. إذا ما كان الخَبن أو الإقحام الحاصل كبيراً عندها تستخدم أرقامٌ

للدلالة على مدى التغيير الحاصل، مثلاً: 109del27 تعني أن 27 نوكليوتيداً (أو 27bp) حذفت بعد النوكليوتيد ذي الرقم 109.

- **الطفرات التي تصيب مواقع التضفير:** يشير الرمز G→T+5IVS20 إلى أنّ النوكليوتيد تبدَّل من غوانين إلى ثيمين عند الموقع 5 من الإنترون 20 (IVS: intervening sequence= intron)، أو قد يُسْتَعمل الرمز التالي للدلالة على الحالة السابقة الذكر 711+5G→T والذي يعني أن النوكليوتيد الخامس من الإنترون الذي يتبع النوكليوتيد 711 في المنطقة المُرَمِّزة قد تبدَّل من غوانين إلى ثيمين.

تتطلب تسمية الطفرات على مستوى البروتين ثلاثة عناصر: الحمض الأميني الأصلي ويُطلق عليه رمز من حرف واحد، موقع الحمض الأميني المصاب، الحمض الأميني الجديد (المُستَبْدَل)، ويُرْمَز له بحرف وحيد.

- **طفرة الاستبدال:** يدل الرمز D89G أن الطفرة أدَّت لاستبدال حمض الأسبارتيك (Aspartic acid) بالغليسين (Glycine) عند موضع الحمض الأميني 89 في البروتين. كما يمكن استخدام الرمز ثلاثي الأحرف للدلالة على اسم الحمض الأميني لتصبح التسمية في المثال السابق Asp89Gly.

- **الطفرة الهرائية:** يُشار إليها بالرمز X ، مثلاً يشير الرمز R81X أو Arg81X إلى أن الرامِز الذي يُرَمِّز الحمض الأميني أرجينين في الموقع 81 قد أصيب بطفرة حوّلته إلى رامِز توقّف. وقد يستعمل الرمز ter بدلاً من X في بعض الحالات للدلالة على رامز التوقّف مثل: G136ter أو Gly136ter.

الفصل العاشر

التشوهات (الزيوغ) الصبغية

Chromosome Abnormalities (Aberrations)

المحتويات Contents

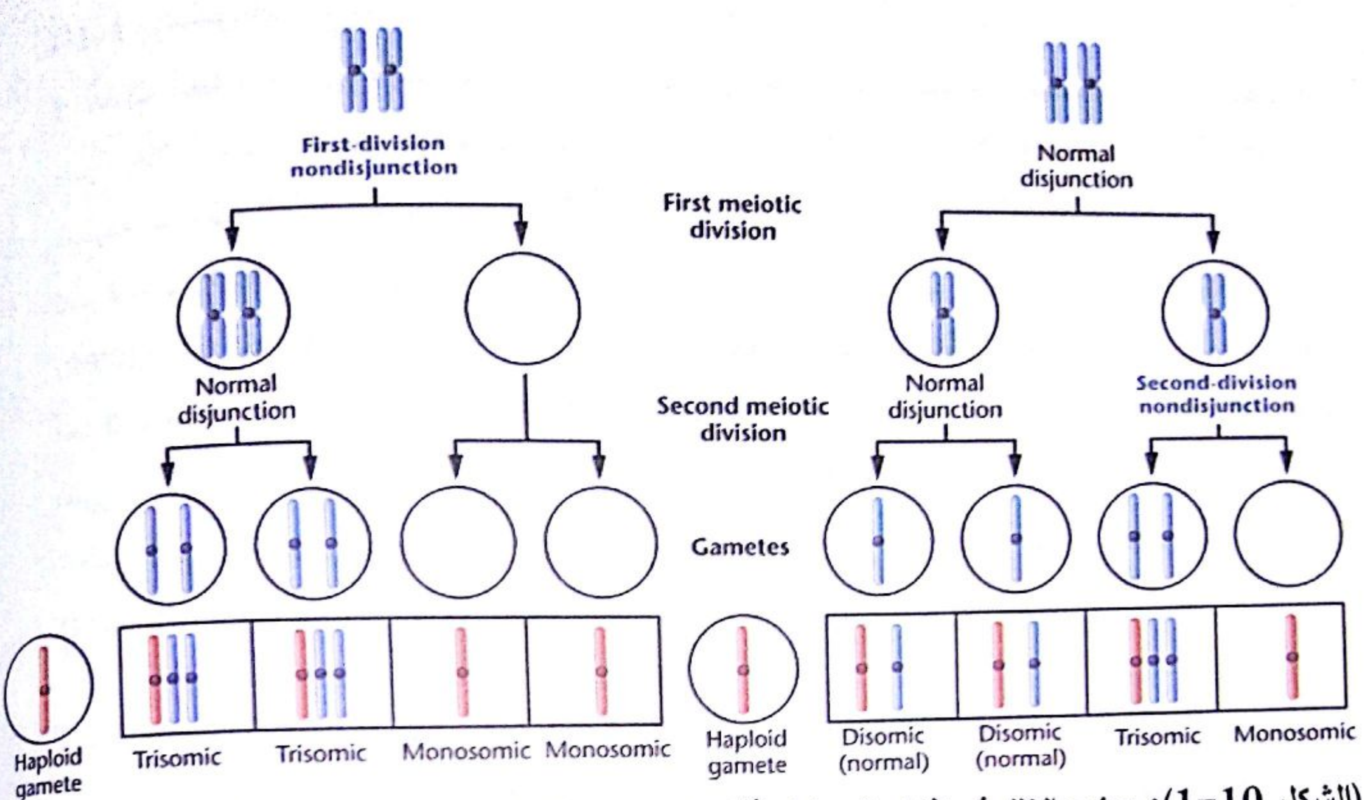
1.10. التشوهات العددية أو اخْتِلالُ الصِّيغَة الصِّبْغَيَّة (Aneuploidy)

قد تحدث أخطاءٌ في توزع الصبغيات خلال الانقسام الفتيلي أو الانقسام الانتصافي مفضياً ذلك إلى ظهور خلايا ينقصها صبغي أو يفيض عنها صبغي. لا تواصل عادةً الخلايا الجسدية ذات الاخْتِلال في الصِّيغَةِ الصِّبْغَيَّة الحياة، وقد تتطور أحياناً إلى خليةٍ سرطانيةٍ (Cancer cell) **الشكل (10-1)**.

تعد الأعراس الحاملة لأقل أو أكثر من 23 صبغياً مسؤولةً عن تشكيل زياجيت مختلّة الصيغة الصبغية (Aneuploid zygotes). يُطلق على الزيادة في صبغيٍ ما تَثَلُّثٌ صِبْغِيّ (Trisomy)، ويُسمى نقص أحد الصبغيات أُحَادُ الصِّبْغِي (Monosomy). يعيق في معظم الحالات نقص أو زيادة أحد الصبغيات تطور الجنين في الرحم بشكل ملحوظ وقد يؤدي لخسارته. وقد تكمل الزيجوت مختلة الصيغة الصبغية التطور حتى الولادة، ولكن يتسبب ذلك في طيف واسع من الأعراض تشمل التشوهات الفيزيائية (Physical abnormalities) والتخلف العقلي (Mental retardation).

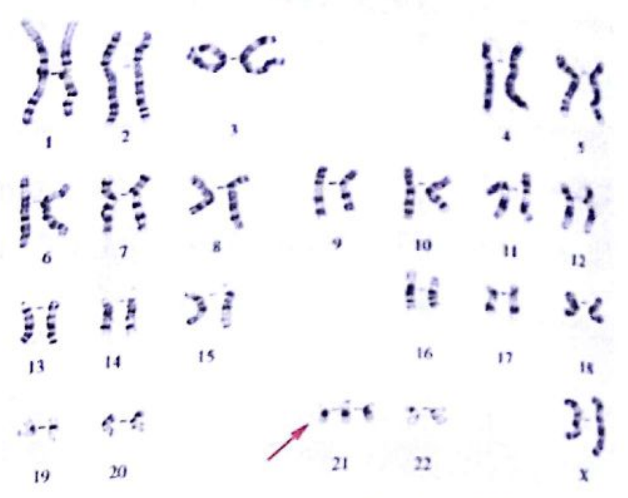
1.1.10. تَثَلُّثِ الصِّبْغِيَات الجسدية (Autosomal trisomy):

- **مُتَلازِمَةُ تَثَلُّثِ الصِّبْغِيِّ 21 (Trisomy 21) أو متلازمة داون (Down syndrome).**
تُكتَب الصيغة الصبغية لأنثى حاملة لهذا التثلث على الشكل التالي: **47,XX,+21**، أما الذكر فتُكتَب كالتالي: **47,XY,+21**. تصاحب متلازمة تثلث الصبغي مجموعة من الأعراض منها: تخلف عقلي، تأخر في النمو، قصر في العظام، وجه مميز كبير ومسطح مع أنف صغير وطية جفن مميزة. يبلغ تكرار (Frequency) متلازمة داون نحو 1 لكل 800 مولود حي. ويزداد هذا الرقم مع تقدم المرأة الحامل بالعمر ليصل إلى 5 في المئة عند بلوغ المرأة الحامل 40 ربيعاً. تحسَّنَ مَأْمولُ الحَياة (Life expectancy) للمصابين بمتلازمة داون خلال العقود الأخيرة ليصل في حالات عديدة إلى 40 عاماً أو أكثر. انظر الشكلين **(10-2)** و**(10-3)**.



(الشكل 10-1): يوضح الخلل في افتراق الصبغيات أثناء الانقسام الانتصافي. على اليمين نلاحظ أن الخلل بدأ في الانقسام الانتصافي الثاني مما أدى إلى تشكيل أعراس على التوالي: خالية من الصبغي (الأزرق في الصورة)، حاملة لصبغيين، اثنان طبيعيان يحمل كل واحد منهما صبغياً واحداً. لدى الاقتران بعرس آخر طبيعي يحمل صبغياً واحداً (البرتقالي في الصورة) ستكون النتيجة إما: زيجوت أحادية الصيغة (Monosomic) أو زيجوت ثلاثية الصيغة (Trisomic) أو زيجوتين طبيعيتين (Disomic). على اليسار نلاحظ أن الخلل بدأ في الانقسام الانتصافي الأول مما أدى إلى توليد نصف الأعراس خالية من الصبغي والنصف الآخر أعراس حاملة لصبغيين. ولدى الاقتران بعرس آخر طبيعي يحمل صبغياً واحداً ستكون النتيجة إما: زيجوتين كل واحدة منهما أحادية الصيغة وإما زيجوتين كل واحدة منهما ثلاثية الصيغة.

- **مُتَلاَزِمَةُ تَثَلُّثِ الصِّبْغِيِّ 18** تسمى بمتلازمة إدوارد (**Edwards syndrome**). تصيب هذه المتلازمة 1 من بين كل 8000 مولود حي، مع العلم أن 5% فقط من الزياجيت الحاملة للصبغي 18 الزائد تتابع الحمل حتى الولادة. تُكتَب الصيغة الصبغية لأنثى مصابة بمتلازمة إدوارد على الشكل التالي: **47,XX,+18**، أما الذكر فتُكتَب صيغته كما يلي: **47,XY,+18** . يُبدي الأطفال المصابون بمتلازمة إدوارد تشوهات وخيمة (Severe abnormalities) عند الولادة منها: تشوهات في القلب، صِغَر الرَّأس أو صَعَل (Microcephaly)، صِغَر المُقْلَة (Microphthalmia)، تأخر نمو وخيم (Severe growth retardation)، تشوهات كلوية وهضمية وعظمية وغدية ورئوية، تخلف عقلي. يموت الأطفال المصابون قبل السنة الأولى من عمرهم، وقد يعيش ثلةٌ منهم للعشرين من العمر **الشكل (10-4)**.

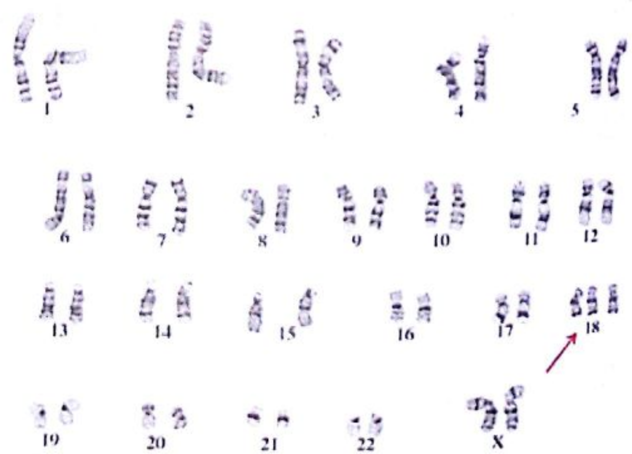


(الشكل 10-2): النمط النووي للفتاة المصابة بمتلازمة داون، ويظهر فيها زيادة عددية في الصبغي 21.



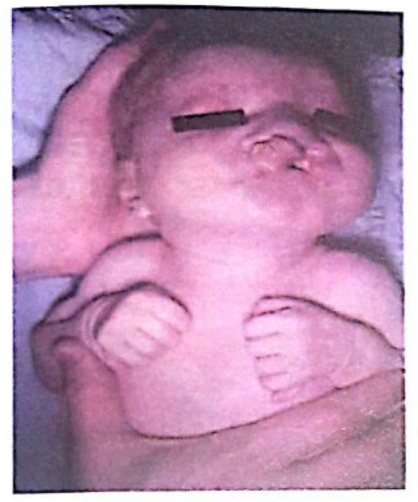
(الشكل 10-3): صورة لفتاة مصابة بمتلازمة داون مع أختها غير المصابة. نلاحظ لدى المصابة جسر الأنف المسطح (Flat nasal bridge)، بروز اللسان (Protruding tongue)، تباعد العينين (Hypertelorism).

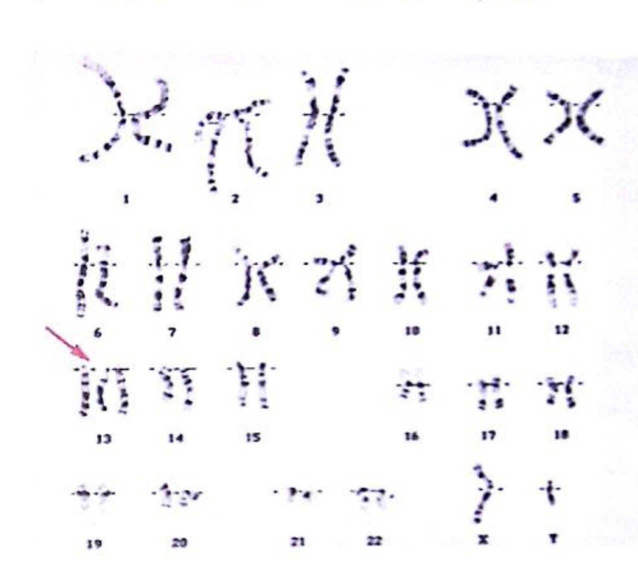




(الشكل 10-4): على اليمين النمط النووي لأنثى مصابة بمتلازمة إدوارد ويظهر فيه زيادة عددية في الصبغي 18. على اليسار طفلة مصابة بمتلازمة إدوارد تظهر عليها الأعراض التالية: عينان صغيرتان (Small eyes)، صِغَر وتراجع فك (Micro retrognathia)، تشوه وتوضع سفلي للأذنين (Low-set/malformed ears).

- مُتلازِمةُ تَثَلُّثِ الصِّبْغِيّ 13 وتسمى بمتلازمة باتو (**Patau syndrome**). تصيب هذه المتلازمة 1 من بين كل 25000 مولود حي. تُكتَب الصيغة الصبغية لأنثى مصابة بمتلازمة باتوعلى الشكل التالي: **47,XX,+13**، أما الذكر فتُكتَب صيغته كالتالي:**47,XY,+13** . تسبب هذه المتلازمة تشوهات: وعائية قلبية (Cardiovascular) مثل العَيوب في الحَاجِزِ البُطَيْنِيّ والأُذَيْنِيّ (Ventricular and atrial septal defect)، عينية (Ocular)، هيكلية (Skeletal)، تناسلية بولية (Genitourinary)، قِحْفِيّة وَجْهِيّة (Craniofacial)، بالإضافة لتخلّف عقليٍ وخيمٍ، لذا يموت غالبية المواليد في الشهر الأول من الولادة، وقلة منهم يتابعون حياتهم لأكثر من 12 شهراً **الشكل (10-5)**.





(الشكل 10-5): على اليمين النمط النووي لذكرٍ مصاب بمتلازمة باتو، **ويظهر فيها زيادة عددية في الصبغي 13.** على اليسار طفل مصاب بمتلازمة باتوتظهر عليه الأعراض التالية: صِغَر الرأس، صِغَر المُقلَة، **ورم وعائي جبهي (Forehead hemangioma)**، الشَفَة / الحنك المشقوق (**Cleft lip/ palate**)، كثرة الأصابع (**Polydactyly**).

- **تَثَلُّثِ الصِّبْغِيّ 9** نادرٌ جداً يموت غالبية المواليد في السنة الأولى بعد الولادة بسبب تشوهات وخيمة تشمل الكثير من الأعضاء: العين، والأنف، والأطراف، وأعضاء أخرى.

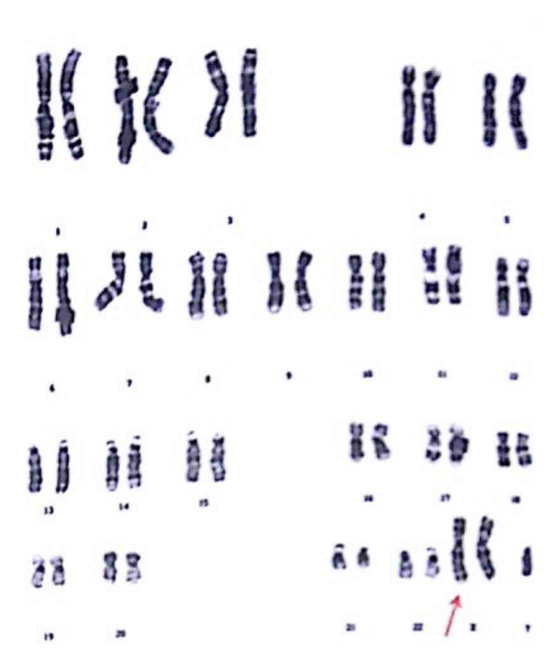
2.1.10. تَثَلُّثُ الصِّبْغِيّات المحددة للجنس (Sex chromosome trisomy):

يسبب وجود صبغي محدد للجنس زائد تأثيرات سريرية وحيوية أقل ضرراً من تلك المشاهدة في تثلثات الصبغيات الجسدية (Autosomal trisomy). نعدد من هذه التثلثات:

- **متلازمة كلينفيلتر (Klinefelter syndrome)** تشاهد لدى الذكور بتكرار 1 من كل 600 وتكون الصيغة الصبغية لديهم: 47,XXY. الرجل الحامل للصبغي X الزائد عقيم (**Infertile**) بسبب عدم قدرته على إنتاج النطاف. وتتنوع الأعراض لدى المصابين بهذه المتلازمة ما بين

طول للقامة غير المتناسق (أطرافٍ وأذرعٍ طويلةٍ ويدين كبيرتين)، وقد تلامس هذه المتلازمة قدراتهم الذهنية (Mental capabilities) دون الجنسية منها. **الشكل (10-6)**.





(الشكل 10-6): على اليمين النمط النووي لذكرٍ مصابٍ بمتلازمة كلينفيلتر، ويظهر فيها زيادة عددية في الصبغي X. على اليسار طفل مصاب بالمتلازمة يبدي نمطاً ظاهرياً طبيعياً.

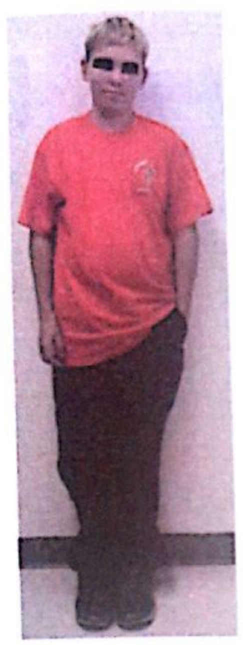
- **تَثَلُّث الصِّبْغِيّ X** (Trisomy X) نجده في واحدة من بين كل 1000 أنثى. تُكتب صيغتها الصبغية على النحو التالي:47,XXX. لا يوجد مجموعة مميزة من الأعراض تصاحب هذا التثلث. ذُكِرَ أن كثيراً من الفتيات الحاملات للصبغي X الزائد يعانين مشاكل في التعليم (**الشكل** 10-7).

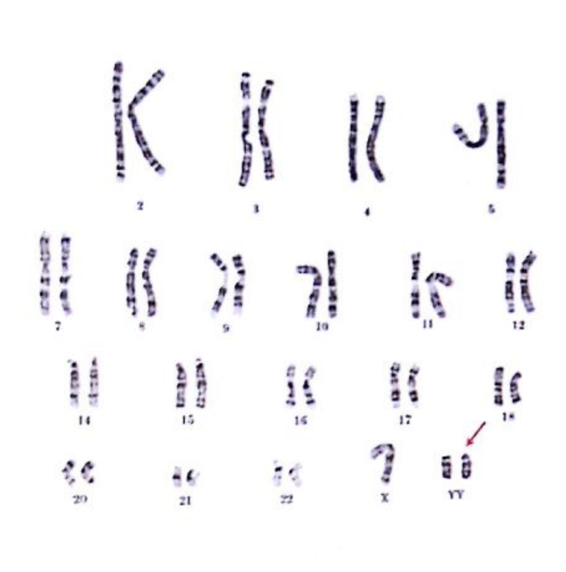




(الشكل 10-7): على اليمين النمط النووي لأنثى لديها تثلث في الصبغي X. على اليسار طفلة لديها تثلث X وتبدي نمطاً ظاهرياً طبيعياً.

- **الصِّبْغِيّ Y الزائد** نجده في واحد من بين كل 1000 ذكر وتكون صيغته الصبغية 47,XYY. لا توجد علامات حيوية مميزة لوجود هذا الصبغي الزائد، ويكون المصابون طبيعيين من ناحية الخصوبة والذكاء مع طول القامة وميل للعدوانية **الشكل (10-8)**.





(الشكل 10-8): على اليمين النمط النووي لذكر لديه زيادة في الصبغي Y. على اليسار صورة لطفل عمره 13 عاماً لديه زيادة عددية في الصبغي Y ويبدي نمطاً ظاهرياً طبيعياً.

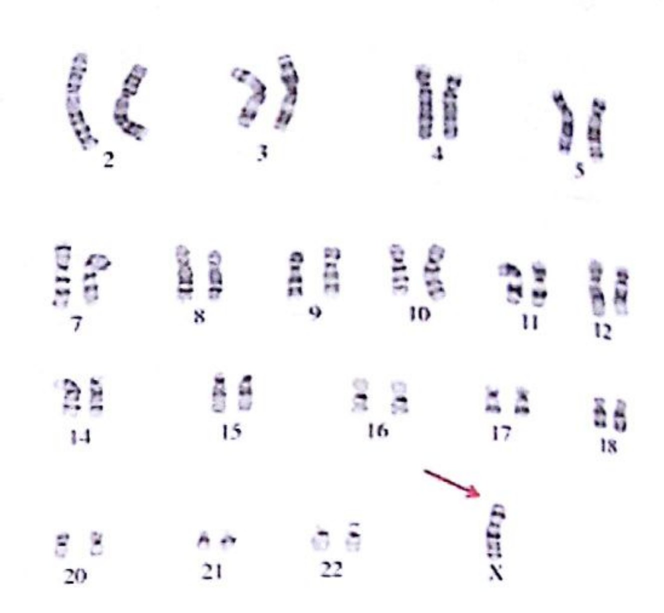
ذُكر وجود حالات تحمل الكثير من الصبغيات المحددة للجنس مثل: 48,XXYY و48,XXXY، ولكنها تبقى نادرة الحدوث. يعاني الأفراد الحاملين لأكثر من صبغي واحد محدد للجنس عقماً وتخلفاً عقلياً واضحاً مقارنةً بأولئك الذين يحملون صبغياً واحداً محدداً زائد للجنس. مع التنويه إلى أن النتائج غالباً ما تكون متوسطة الخطورة لدى تعلق الأمر بوجود صبغي X زائد، ويُعَلَّل ذلك بوجود آلية تثبط التعبير الجيني لمعظم الجينات الموجودة على الصبغي X الزائد. يجب التنويه هنا أيضاً إلى عدم وجود آلية مماثلة تقوم بتثبيط الجينات الموجودة على أي صبغي جسدي زائد، ولهذا تكون الجينات الموجودة على الصبغيات الثلاثة فعالة.

3.1.10. أَحَادية الصِّبْغِيَات المحددة للجنس (Sex chromosome monosomy)

ذُكرت حالة وحيدة لأُحَادية الصِّبْغِيّ المحدد للجنس هي **أحادية الصبغي X**، وتدعى بمتلازمة تيرنر **(Turner's syndrome)**. تكون الصيغة الصبغية للفتيات الحاملات للنقص في الصبغي X هي: 45،X. تتصف الإناث الحاملات لهذه المتلازمة بالعقم (النفاد الباكر للجريبات) وقصر القامة. ويمكن أن نتلمس كثيراً من الصفات الفيزيائية (Physical features) لدى هؤلاء النسوة مثل الرقبة الثخينة، وقد تعاني بعض منهن تشوهات كلوية وقلبية وعائية. تختلف المراجع في وجود تأثيرات لغياب الصبغي X

على الذكاء، مع العلم أن قدرات الإدراك الفراغي (Spatial perception) والمهارات الحركية (Motor skills) قد تتأثر (**الشكل 10-9**).





(الشكل10-9): على اليمين النمط النووي لأنثى مصابة بمتلازمة تورنر. على اليسار طفلة لديها متلازمة تورنر تبدي الأعراض التالية: (Short stature)، رقبة وَتْراء (Webbed neck)، الصدر الدرعي (Shield-like chest)، حَلمات متباعدة (Widely spaced nipples).

- **لم تذكر أيّ حالة في الأدبيات الطبية عن وجود أحاد الصبغي Y (Y،45) لدى مولود حي.**

نذكر في النهاية أن اختلال الصيغة الصبغية بنوعيها زيادةً أو نقصاناً قد لا تحدث في جميع الخلايا لدى شخص ما، وإنما في مجموعة من الخلايا دون أخرى، تدعى هذه الحالة الفُسَيْفسَائية أو التزيّق (Mosaicism). تملك الحالة الفسيفسائية تأثيراً حيوياً ملموساً، ولكن مع ذلك تسبب أعراضاً أقل وخامةً من تلك المشاهدة لدى أشخاصٍ يحملون الاختلال في الصيغة الصبغية في جميع خلاياهم.

قد تحدث حالة الفسيفساء بسبب خلل في الانقسام الفَتِيْلِيّ أثناء تطور الزيجوت ونكون أمام حالتين:

- قد تكون الزيجوت ذات صيغة صبغية مختلة ليحدث تصحيح، وتنشأ عنها خلية ذات صيغة صبغية طبيعية، ويحدث ذلك في المراحل المبكرة من تطور الزيجوت.
- يحدث الخلل في زيجوت تحمل صيغة صبغية طبيعية مؤدياً لنشوء خلية ذات صيغة صبغية مختلة.

في كلتا الحالتين إذا ما حدث الاختلال في الصيغة الصبغية في مراحل مبكرة من الحمل فإن الحالة الفسيفسائية ستطال كثيراً من الأنسجة والأعضاء في الجسم. أما إذا حدث الخلل في الانقسام الفَتِيْلِيّ في مراحل متأخرة من الحمل فإن قلة من الأعضاء أو الأنسجة ستصاب بهذا الخلل، وربما يكون التأثير الحيوي لهذا الخلل ضئيلاً.

2.10. التبدلات الصبغية البنيوية (Chromosome Structural Changes)

تحدث التبدلات الصبغية البنيوية عندما ينكسر جزيء الدنا ويضيع الجزء المكسور، أو عندما ينكسر جزيء الدنا ثم يعاود الالتحام في مكان آخر غير مكانه الطبيعي مما يؤدي لإعادة ترتيب غير طبيعي للجينات. قد تحدث هذه التبدلات لخلل في الدورة الخلوية أثناء عملية تضاعف الدنا، أو أثناء حادثة التَّعابُر (Crossing over). كما قد تساهم عوامل محيطية وبيئية في إحداث تكسّر للصبغيات كأشعة X أو الأشعة فوق البنفسجية أو المواد الكيميائية المُطفِّرة (Mutagen).

قد يصيب التبدل البنيوي صبغياً واحداً أو أكثر، ويمكن أن تُصنِّف التبدلات الصبغية البنيوية في مجموعات رئيسية أربع:

1.2.10. الخَبْن (Deletion):

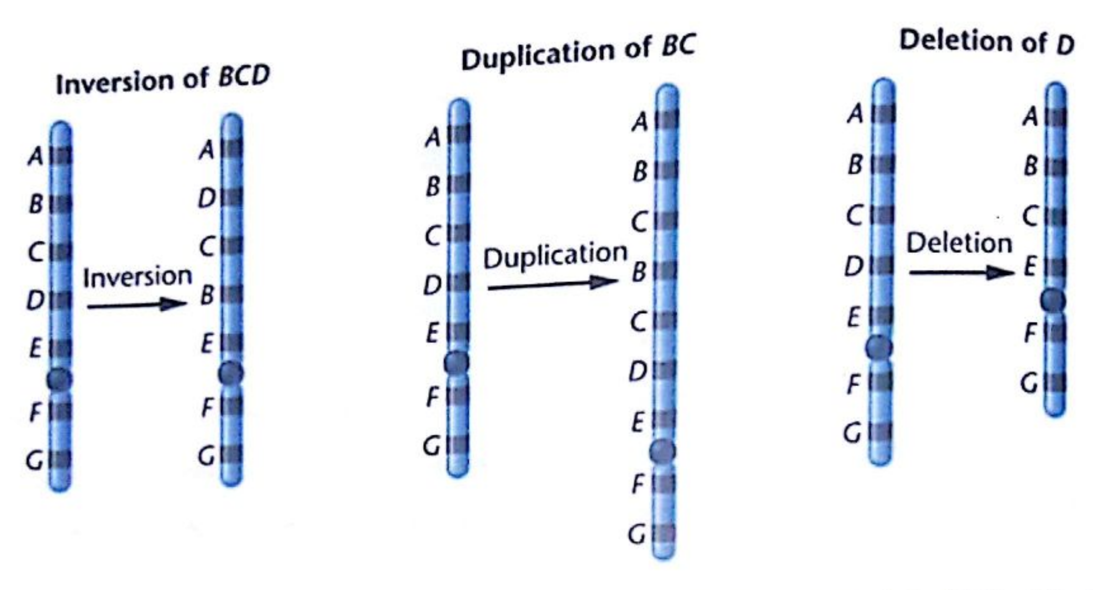
يحدث هذا النوع من التشوه في الصبغي نفسه مؤدياً لفقد مادة وراثية منه. يُرمَّز للخبن وفقاً للنظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (ISCN) بـ: **del**. يمكن أن يحدث الخبن في أطراف الصبغي، ويُسمى الخَبْن الانتهائي (Terminal deletion). نذكر من الأمثلة عن الخبن الانتهائي:

- **متلازمة مواء القطة (Cri-du-chat)**: والتي تنجم عن خبن انتهائي في الذراع القصير من الصبغي الخامس. تُكتب صيغة متلازمة مواء القطة كما يلي:46,XY,del(5)(p15). وتفسر على النحوالتالي: صيغة صبغية لذكر يحمل عدداً طبيعياً من الصبغيات، لديه خبن في العصابة الخامسة من المنطقة الأولى للذراع القصير في الصبغي الخامس. يبكي الأطفال المصابون بمتلازمة مواء القطة بصوت مشابه لمواء القطة، كما تظهر عليهم تشوهات فيزيائية عديدة نذكر منها: صغر الرأس، فَرْط تَباعُدِ العَينَين (Ocular hypertelorism)، صِغَر الفَكّ (Micrognathia)، تخلف عقلي شديد.
- **متلازمة ولف هيرشورن (Wolf-Hirschhorn Syndrome)**: تنجم عن خبن انتهائي في الذراع القصير من الصبغي الرابع. تُكتب صيغة المتلازمة لذكر مصاب كما يلي: 46,XY,del(4)(p16.3). يعاني المصابون بهذه المتلازمة تشوهات فيزيائية عديدة وتخلفاً عقلياً شديداً.

كما قد يحدث الخبن ضمن الصبغي ويطلق عليه في هذه الحالة الخَبْن الخِلاَلِيّ (Interstitial deletion) (**الشكل 10-10**). ولتوضيح طريقة كتابة صيغة الخبن بحسب الـ ISCN نأخذ المثال التالي: 46,XX,del(X)(p1p2) تشير الصيغة إلى عدم وجود اختلال في عدد الصبغيات لدى هذه الأنثى، ويدل الرمز del إلى وجود خبن في الذراع القصير من الصبغي X بين المنطقتين 1 و2.

تتعلق التأثيرات الحيوية للخَبْن بنوعيه الطرفي والخلالي بحجم المادة الوراثية المفقودة وبما تحتويه الشُدْفَة (Fragment) المحذوفة من جينات. وبشكل عام كلما كانت كبيرةً تلك الشدفة المحذوفة كلما كانت التأثيرات الحيوية أشد وخامةً وخطورةً.

يجب التنويه هنا إلى أن الخبن إذا ما أدى لضياع القسيم المركزي مع الشدفة المحذوفة فإن الصبغي المتأذي محكومٌ عليه بالضياع خلال دورة الانقسام الخلوي بسبب عجزه عن الارتباط بالألياف المغزلية خلال الطور التالي ومن ثم إخفاقه في الهجرة خلال طور الصعود (Anaphase) وعدم وجوده في نواة أي من الخليتين البنتين (**الشكل 10-11**).

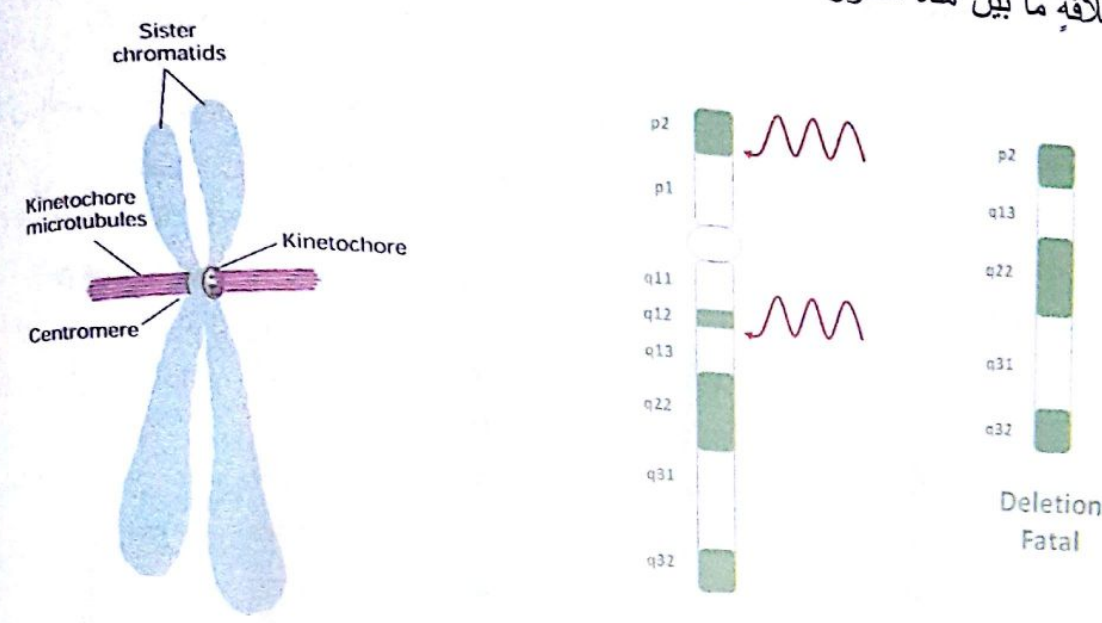


(الشكل 10-10): شكل توضيحي تشوهات بنيوية عدة في الصبغيات مقارنةً مع صبغيات طبيعية بجانبها. نلحظ من اليمين خبناً خلالياً في المنطقة D. يليه تضاعف في المنطقتين B وC. ثم انقلاب في القطعة من الصبغي الحاوية على المناطق B وC وD.

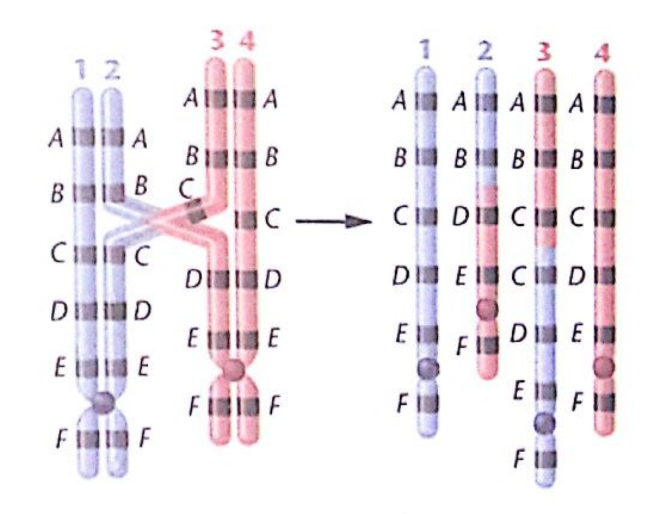
2.2.10. التضاعف (Duplication):

يُعرَّف التضاعف أنه وجود لقطعةٍ أو لموضع واحد من الصبغي لأكثر من مرة على الصبغي نفسه (**الشكل 10-10**). يمكن أن ينشأ التضاعف بسبب حادثة تعابر غير متساو(Unequal crossing over) خلال الانقسام الانتصافي (**الشكل 10-12**). ويُرمَّز له وفقاً للنظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (ISCN) بـ: **dup**. تأخذ الصيغة التالية كمثال: 46,XY,dup(14)(q1q3). تدل الصيغة على أن المريض هو ذكر لا يحمل أي اختلال في عدد صبغياته (46)، وإنما تضاعف (dup) في الذراع الطويل من الصبغي الرابع عشر بين المنطقتين 1 و2. يكون تأثير التضاعف بحسب القطعة المتضاعفة وما تحمله من جينات. يجب التنويه هنا إلى وجود شدفٍ من الدنا متكررة لأكثر من مرةٍ في المجين البشري. من هذه الشدف نذكر عدد النسخ المتفاوتة (Copy number variants) ويطلق عليها اختصاراً (CNVs). يبلغ طول الـ CNV نحو 1000 شفع من الأسس (1000 base pairs) أو

اختصاراً 1kb (أشارت دراسات حديثة إلى أن طول الـ CNVs يبلغ 500 شفع من الأسس). وتنتشر في 10000 موقع على كامل المجين. ركّزت دراسات كثيرة على إيجاد علاقة ما بين الـ CNVs والاستعداد الوراثي للإصابة ببعض الأمراض سيّما الأمراض المعقدة مثل السرطان والسكري والأمراض العصبية، أو حتى إيجاد علاقةٍ ما بين هذه التكرارات الجينية والاستجابة الدوائية.



(الشكل 10-11): شكل توضيحي لحدوث خبن يشمل منطقة القسيم المركزي من الصبغي. على اليمين تشير الأسهم لمكان الكسر، ونلاحظ أن الصبغي مآله إلى الضياع خلال عملية انقسام الخلية. على اليسار نلاحظ أهمية القسيم المركزي إذ تتوضع عليه بروتينات الحَيِّز الحَرَكِيّ، وتقوم بربط الصبغيات مع الأُنَيْبِيْبات (Microtubules).



(الشكل 10-12): شكل توضيحي لحدوث تضاعف وخبن خلال حادثة التعابر أثناء الانقسام الانتصافي. نلحظ أنَّ التعابر ما بين شقَّي الصِّبْغِيِّ اللَّامُتَآخِيين (Nonsister chromatids) 2 و3 لم يتم بشكل صحيح مما أدى إلى تولد صبغي (2) يحوي خبناً وإلى تولد صبغي آخر (3) يحوي تضاعفاً.

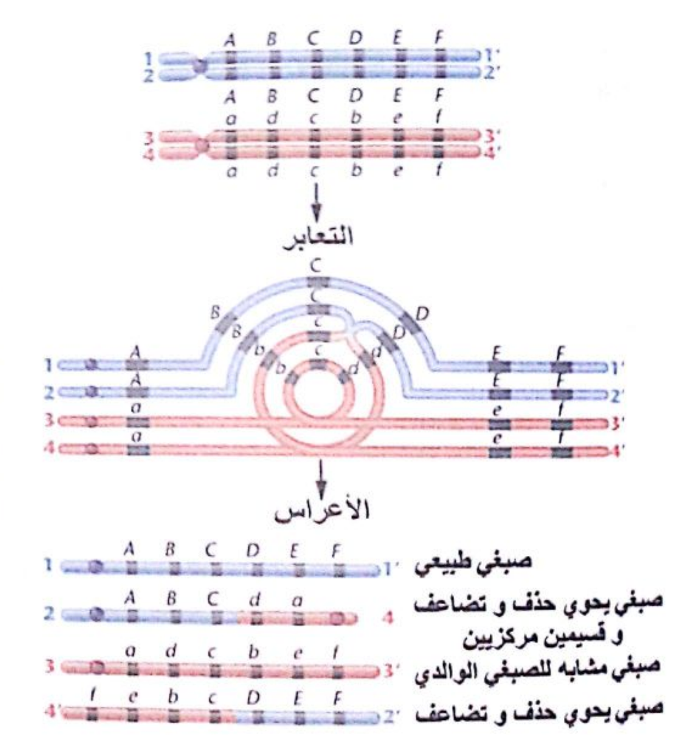
3.2.10. الانقلاب (Inversion):

ما يحدث في هذا النوع من التبدلات الصبغية هو كسر في طاقي الدنا ثم انقلاب الشدفة المكسورة 180^o والتحامها ضمن الصبغي نفسه، مما يؤدي لتغير في ترتيب الجينات على الصبغي. إذا ما كان القسيم المركزي خارج الشدفة المُنقَلِبة يسمى الانقلاب انقلاباً مُجَاوِراً للمركز (Paracentric inversion)، وإذا كان القسيم المركزي ضمن الشدفة المنقلبة يسمى الانقلاب انقلاباً مُحِيْطاً للمركز (Pericentric

inversion). ويُرمَّز للانقلاب وفق النظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (ISCN) بـ: **inv**. تُقرأ الصيغة على النحو التالي: 46,XX,inv(9)(p13q22)، أنثى لا يوجد لديها اختلال في الصيغة الصبغية، وإنما انقلاب في الصبغي التاسع. وتشير الأرقام والأحرف إلى أن نقطتي الكسر حدثتا في العُصابة 3 في المنطقة 1 من الذراع القصير والعصابة 2 في المنطقة 2 من الذراع الطويل.

قد يتسبب الانقلاب بضررٍ وقد لا يتسبب. والسبب في ذلك مكان الكسر إن كان يمس ببنية جين ما أو لا. فأما إذا كانت نقطة الكسر ضمن بنية الجين فسيؤدي إلى تعطيلها والتأثير على منتجها حتماً مؤدياً إلى تأثيرات حيوية عديدة، وأما إن كانت نقطة الكسر خارج بنية الجين فلا أذية تُذْكَر وتبقى جميع المعلومات الوراثية مصانةً.

ولكن يبقى للانقلاب تأثير خلال عملية تشكل الأعراس ومن ثم على ذرية الكائن الحامل للانقلاب. فخلال الانقسام الانتصافي، وبالتحديد أثناء عملية التعابر، يحدث أن يصطف كل شقي صبغي متآخيين مقابل شقي الصبغي الآخرين المشابهين لهما. إذا لم يحدث تعابر بين شقي الصبغي اللامتآخيين فلن يحدث أي ضرر. أما إذا حدث التعابر فإن النتيجة ستكون أن نصف الأعراس سليمةً والنصف الآخر سيحمل صبغيات ذات شذوذات بنيوية عديدة من خبنٍ وتضاعفٍ **الشكل (10-13)**.

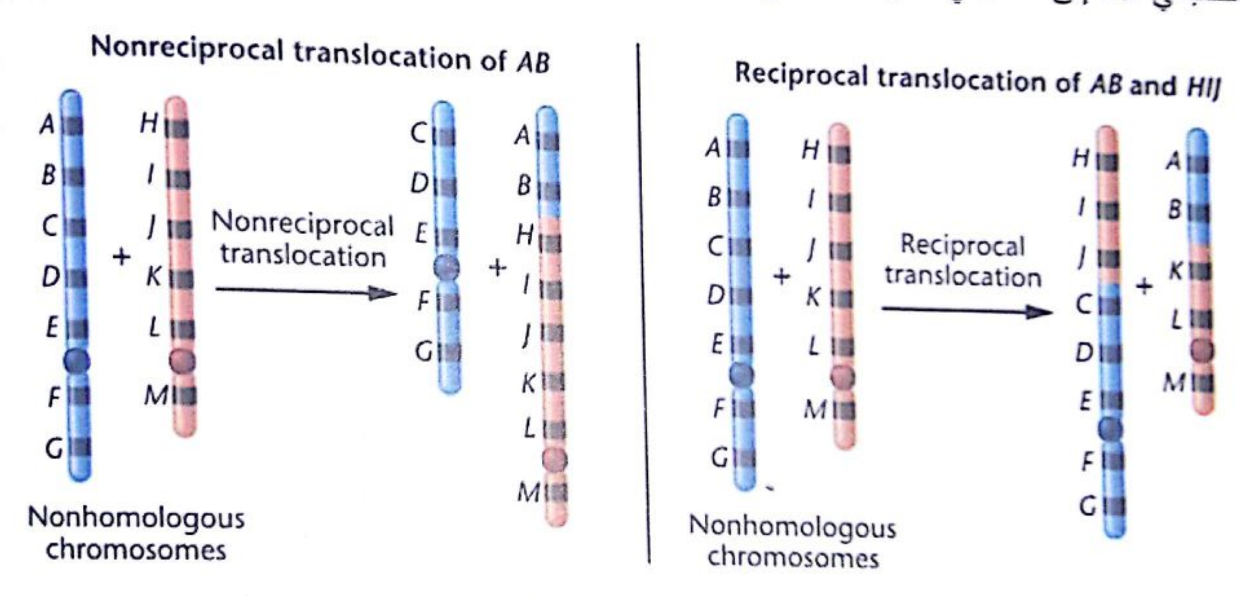


(الشكل 10-13): شكل توضيحي لأثر الانقلاب على تشكيل الأعراس خلال الانقسام الانتصافي. تتشكل عروة أثناء التعابر وبعد حدوث التعابر يظهر لدينا عِرْس يحمل صبغياً طبيعياً (1) لم يمسسه التعابر، وعِرْس ثانٍ يحمل صبغي مشابه للصبغي الوالدي (3) طبيعي لم يمسسه التعابر أيضاً، وعِرْس يحمل الصبغي (2) فيه حذف وتضاعف لشدف عديدة بالإضافة إلى خسارته القسيم المركزي، وعِرْس يحمل الصبغي (4) فيه حذف وتضاعف لشدف عديدة بالإضافة إلى اكتسابه لقسيم مركزي ثانٍ.

4.2.10. الإزْفاء (Translocation):

هوانتقال لشدفة / شدف ما بين صبغيين غير متماثلين (Nonhomologous chromosomes). قد يكون هذا الانتقال بشكل متبادل أي تنتقل قطعة من الصبغي 1 إلى الصبغي 2، وتنتقل قطعة أخرى من

الصبغي 2 إلى الصبغي 1، يسمى هذا النوع بالإزفاء المُتبَادَل (Reciprocal translocation). وقد يكون الانتقال من صبغي إلى آخر ويسمى بالإزفاء غير المُتبَادَل (Nonreciprocal translocation)، (الشكل 10-14). يُرمز للإزفاء وفقاً للنظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (ISCN) بالحرف **t**. وتُقرأ الصيغة الصبغية التالية كما يلي: 46,XY,t(7:19)(q22;q13)، ذكر لا يوجد لديه اختلال في الصيغة الصبغية (46)، وإنما إزفاء متبادل ما بين الصبغيين السابع والتاسع عشر. وتتوضع نقطتا الكسر عند العصابة 2 في المنطقة 2 من الذراع الطويل للصبغي 7 وعند العصابة 3 في المنطقة 1 من الذراع الطويل للصبغي 19. أي إن الشدفة المكسورة من الذراع الطويل الصبغي 7 قد انتقلت إلى الصبغي التاسع عشر والتحمت في نقطة الكسر من الذراع الطويل للصبغي 19، وانتقلت الشدفة المكسورة من الذراع الطويل من الصبغي 19 إلى الصبغي 7 والتحمت في نقطة الكسر من الذراع الطويل للصبغي 7.



(الشكل 10-14): يُوضّح الإزفاء المتبادل بين صبغيين غير متماثلين على اليمين والإزفاء غير المتبادل بين صبغيين غير متماثلين على اليسار.

يمكن تحري الإزفاء المتبادل مرة واحدة من كل 800 مولود حي، وتكون هذه الإزفاءات منتشرة لدى عائلات معينة.

ليس للإزفاء في كثير من الأحيان تأثيرات حيوية مباشرة على الشخص الحامل لها بسبب أن المادة الوراثية لا تُفقَد، وإنما فقط هناك تغيير في المكان. قد يكون الإزفاء ضاراً في حالتين اثنتين:

- وجود نقطة الكسر، في الشدفة المنتقلة، في بنية جين ما وهنا يكون التأثير الحيوي بحسب الجين المتأذية. مثلاً نجد الازفاء التالي: t(9:22)(q34;q11) في 90- 95% من حالات ابيضاض الدم النقوي المزمن (Chronic myeloid leukemia: CML)، وهو سرطان يتسبب في فرط

إنتاج نوع من كريات الدم البيضاء تدعى بالكُرَيَّات البَيضاء المُحَبَّبَة (Granular leukocytes).

- قد ينجم عن الإزفاء المتبادل خلل أثناء تشكيل الأعراس في الانقسام الانتصافي (**الشكل 10-15**). في هذه المثال الذي يشير لحالة إزفاء ما بين الصبغيين 7 و19 **[t(7:19)(q22;q13)]** وخلال عملية تشكل المشابك في الانقسام الانتصافي الأول فإنه ستتشكل بنية رباعية التكافؤ تضم كلاً من الصبغيين السليمين 7 و19 بالإضافة للصبغيين الحاملين للإزفاء. وبعد حدوث التعابر والهجرة في الانقسام الانتصافي الأول قد تنشأ تراكيب جينية مختلفة ضمن الصبغيات في كل عرس. وبعد انتهاء الانقسام الانتصافي الثاني فإن الأعراس ستحمل إما صيغة صبغية كاملة وإما صيغةً صبغيةً غير طبيعية حاويةً على زيادةٍ أو نقصانٍ لشدف من هذا الصبغي أو ذاك. وبعد حدوث الإخصاب (Fertilization) مع عرس آخر فإننا نصبح أمام احتمالات أربعة (**الشكل 10-16**).

1- زيجوت تحمل صيغة صبغية كاملة خالية من الإزفاء [19،19 / 7،7].

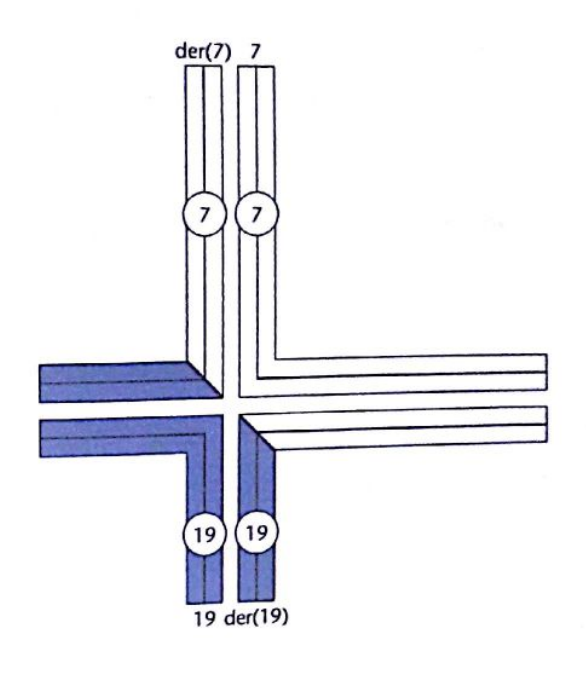
2- زيجوت تحمل الصيغة الصبغية [19،der(19) / 7،7] الحاوية على: صبغيين 7 طبيعيين وكاملين، صبغي واحد 19 طبيعي وكامل، صبغي 19 يحمل شدفة من الصبغي 7. أي نحن أمام تثلث صبغي 7 جزئي (Partial trisomy) وأحاد صبغي 19 جزئي (Partial monosomy).

3- زيجوت تحمل الصيغة الصبغية [19،19 / 7،der(7)] الحاوية على: صبغيين 19 طبيعيين وكاملين، صبغي واحد 7 طبيعي وكامل، صبغي 7 يحمل شدفة من الصبغي 19. أي نحن أمام تثلث صبغي 19 جزئي وأحاد صبغي 7 جزئي.

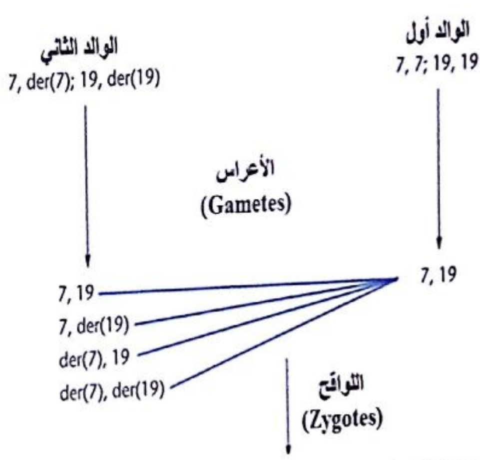
4- زيجوت تحمل الصيغة الصبغية [19،der(19) / 7،der(7)] الحاوية على: صِبغيين 7 و19 طبيعيين وكاملين، صِبغيين 7 و19 يحملان الإزفاء المتبادل دون وجود نقص أو زيادة في المادة الوراثية. هذه الحالة مماثلة لحالة الوالد الثاني.

يجب التنويه في النهاية إلى أنه في حالات يمكن أن يكون الإزفاء غير عكوس وفي حالات أندر يمكن أن يحدث الإزفاء ما بين ثلاث صبغيات أو أكثر، حتى الأنواع الأخرى من التشوهات البنيوية يمكن أن تطال أكثر من صبغي مختلف. وإذا وجدت مثل هذه التشوهات البنيوية المتعددة في زيجوت ما فإنها على الأغلب مميتة.

يبدو جلياً أن كليهما العدد الصحيح للصبغيات ويكون توافر كامل كمية المعلومات الوراثية ضرورياً للتطور الطبيعي للجنين.



(الشكل 10-15): يمثل تشكل البنية الرباعية أثناء الانقسام الانتصافي الأول بين الصبغيين 7 و19. مع العلم أنه قد حصل إزفاء ما بين هذين الصبغيين t(7:19). يشير الرمز der إلى مشتق (Derived).



(الشكل 10-16): الاحتمالات الافتراضية لحالة زواج بين والد طبيعي (الأول) وآخر (الثاني) يحمل الإزفاء المتبادل (7:19) وهو طبيعي أيضاً. يشير الشكل إلى وجود أربعة احتمالات. نتيجة لهذه الاحتمالات فإن الزيجوتين اللتين تحملان الرقم 1 والرقم 4 ستتابعان التطور خلال الحمل بشكل طبيعي حتى الولادة. أما الزيجوتان اللتان تحملان الرقم 2 والرقم 3 فإنهما لن تتطورا بشكل طبيعي خلال الحمل، وسيحدث إجهاض على الأغلب قبل الوصول للولادة. لذا يمكن القول إن الإزفاء المتبادل يسبب نظرياً نقصاً في معدل الخصوبة بنسبة 50%.

الفصل الحادي عشر

الاستنصاح الوراثي

Genetic Counseling

المحتويات Contents

يعدّ الارتقاء بالصحة وتعزيزها واتخاذ الوسائل الوقائية من الأهداف الرئيسية للرعاية الصحية الأولية الموجهة للفرد والمجتمع لتعديل السلوك الصحي، وتصحيح المفاهيم الخاطئة الناتجة عن تداخل الوراثة والسلوك والبيئة ونمط الحياة، مما كان له الأثر الواضح في انتشار كثير من الأمراض ومنها الأمراض الوراثية في المجتمع.

يدخل الاستنصاح الوراثي والفحوصات الطبية قبل الزواج في مجال الطب الوقائي الذي يهدف إلى الحد من انتشار الأمراض الوراثية.

1.11. التعريف:

يعرف الاستنصاح الوراثي بالعملية التثقيفية التي تهدف إلى مساعدة الأفراد المصابين أو ذوي اختطار الإصابة بأمراض وراثية، وذلك لفهم طبيعة الاضطراب الوراثي، انتقاله، والخيارات المتوفرة لهم في التدبير والتخطيط العائلي، إضافة إلى تقديم الدعم النفسي وخطة التعامل مع الحالة الوراثية.

رغم أن وظيفة توفير المعلومات حول الأمراض الوراثية غالباً ما تتم من قبل فريق من اختصاصيي الوراثة الطبية عاليي التدريب والناصحين الوراثين Genetic Counselors فإنه يمكن أيضاً توفير المعلومات من قبل طبيب العائلة، طبيب الأطفال، طبيب النسائية والتوليد، أو الممرضة المختصة.

يجب أن يتم الاستنصاح الوراثي اعتماداً على فهم المبادئ الوراثية، والقدرة على التعرف على الأمراض الوراثية والمتلازمات النادرة وتشخيصها، ومعرفة السير الطبيعي للاضطراب الوراثي واختطار رجعته.

إن معرفة طرائق التشخيص قبل الولادة وبرامج التقصي المتوفرة والوصول إلى المعلومات حول التقدم في الاضطرابات الوراثية والطرائق الطبية هي ضرورية أيضاً.

يتضمن الاستنصاح الوراثي: القصة المرضية والعائلية وبناء شجرة النسب والفحص الفيزيائي والتشخيص وإبداء المشورة والمتابعة.

2.11. القصة المرضية والعائلية:

يدعى الفرد المصاب الذي يطلب الاستنصاح الوراثي لأجله بالمُستلفِت Proband، الذي غالباً ما يكون طفلاً، وربما يكون بالغاً، سواء أكان ذكراً أم أنثى، وربما يكون قريباً له.

لذلك يحتاج الأمر إلى أخذ قصة طبية معيارية للمستلفت ولأي فرد آخر مصاب من العائلة، إضافةً إلى معرفة التاريخ الطبيعي للاضطراب الوراثي النوعي في العائلة. كذلك توثيق القصة قبل الولادة، الحمل، وظروف الولادة.

3.11. بناء شجرة النسب The Pedigree:

إن شجرة النسب هي مِبيان diagram للقصة العائلية يُظهِر عبر الرسم صلة القربى بين أفراد العائلة، ويبيّن أياً من أفراد العائلة هو المصاب بحالات طبية معينة.

يجب الحصول على معلومات شجرة النسب من أجل ثلاثة أجيال من العائلة الجاري تقييمها من أجل الاضطراب الوراثي. يتشارك أقرباء الدرجة الأولى مع المستلفت (الذي جلب الانتباه للعائلة تجاه المرض الوراثي) بنصف مادتهم الوراثية وهم الأخوة، والأخوات، والآباء، والأبناء.

وهؤلاء الذين يتشاركون بربع مادتهم الوراثية هم أقرباء من الدرجة الثانية (الأجداد، والأحفاد، والعمات، والخالات، والأعمام والأخوال، وبنات الأخ وبنات الأخت، وأبناء الأخ وأبناء الأخت). وأخيراً يتشارك أقرباء الدرجة الثالثة والرابعة مع المستلفت بثُمن أو أقل من مادتهم الوراثية.

تُستخدم في رسم شجرة النسب مجموعة من الرموز القياسية (**الشكل 11-1**). لقد اتُفق على وضع الخط الذكري على اليسار، وكل أفراد الجيل الواحد يوضعون على نفس المستوى الأفقي، وتُستعمل الأرقام العربية لتشير إلى كل فرد في داخل كل جيل (مع بدء الترقيم من اليسار)، كما يُرمز لكل جيل بالأرقام الرومانية بدءاً من الجيل الأول.

Normal male
Affected male
Stillbirth
SB
or
Spontaneous abortion
or
Marriage
Offspring with unacknowledged parentage
Consanguineous marriage
No offspring
Marriage with three children
Proband
P
or
Examined personally
Divorced
Prenatal diagnosis with termination of an affected fetus
or
Normal female
Affected female
3
Three unaffected females
Deceased
Sex unknown
Pregnant
P
or
Non-identical twins
Identical twins
or
Twins of uncertain zygosity
?
Obligate carrier (will not manifest disease)
Asymptomatic/presymptomatic carrier
Adoption

(الشكل 11-1): رموز شائعة الاستخدام في رسم شجرة النسب.

يستطيع الناصح الوراثي من خلال النظرة المتفحصة لشجرة النسب أن يحدد طرق توارث المرض الوراثي سواء كانت طرقاً تقليدية (مندلية أو مرتبطة بالجنس) أو غير تقليدية (مثل التوارث المتقدري) أو متعددة العوامل.

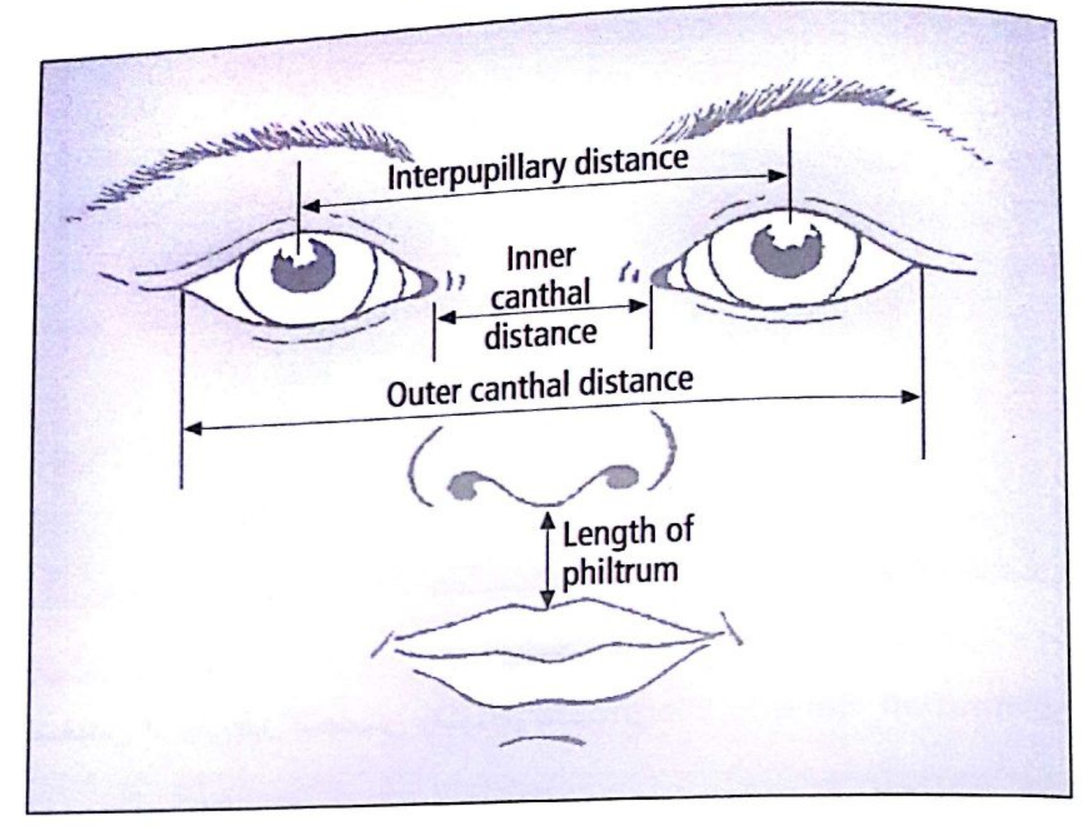
4.11. استطبابات الاستنصاح الوراثي Genetic Counseling indication:

- عمر والدي متقدم: عمر الأم > 35 سنة، عمر الأب > 50 سنة.
- طفل ذو شذوذات خلقية أو تشوهات.
- زواج القربى Consanguinity
- قصة عائلية لاضطرابات أو أمراض وراثية وتشمل:
  - كهولة.
  - وراثة متعددة العوامل.
  - شذوذاً صبغياً.
  - اضطرابات أحادية الجين.
- تقصّي متغايري الألائل اعتماداً على الإثنية مثل فقر الدم المنجلي والتالاسيميا عند المتوسطيين والعرب.
- تقصي شذوذ في الحمل، ويشمل:
  - فحصاً بالأمواج فوق الصوتية.
  - ألفا فيتوبروتين مصل الأم.
  - الاختبار الثلاثي لمصل الأم.
- إملاص Stillbirth (ولادة جنين ميت) ذو شذوذات خلقية أو مجهول السبب.
- التعرض أو اختطار التعرض لعامل ماسخ Teratogen.
- قصة عائلية لولادة طفل مصاب بشذوذات خلقية أو تخلف عقلي.
- فقدان الحمل المتكرر أو الإجهاضات المتكررة.
- قصة عائلية للإصابة بالسرطان خاصة في أعمار مبكرة.

5.11. الفحص الفيزيائي Physical Examination:

يجرى فحص فيزيائي كامل للمستلفت مع وصف دقيق للملامح الشكلية وشذوذاتها Dysmorphic Features مثل تباعد المسافة بين الحدقتين، الموقين، توضّع منخفض للأذنين، قصر الرأس، انحراف الأصابع... إلخ (**الشكل 11-2**). قد يكون الانطباع الأولي خادعاً، لذلك من المهم أن تُجرى القياسات الدقيقة من أجل إثبات ملمح معين مثل اتساع المسافة بين العينين أو قصر القامة غير المتناسق، مع الأخذ بعين الاعتبار أن المجال السوي لكل ملمح يختلف باختلاف العمر والجنس، وكل هذه التغيرات

موجودة في جداول وثيقة الصلة بهذا الموضوع. كما يمكن أن تقدم دراسة نموذج بصمة الأصابع Dematoglyphics مفاتيح مهمة لتشخيص الاضطراب الوراثي.



(الشكل 11-2): بعض القياسات المستخدمة في دراسة الملامح الشكلية.

6.11. التشخيص والاستقصاءات الوراثية Diagnosis and Genetic Investigation:

لا بد من محاولة الوصول إلى التشخيص الدقيق للأمراض الوراثية، لأنه دون ذلك يكون الاستنصاح الوراثي مضللاً (**الجدول 11-1**). كما يعتمد تقدير اختطار الرجعة من أجل مختلف أفراد العائلة على التشخيص الدقيق. وعند عدم التمكّن من وضع تشخيص نوعي (كما في كثير من حالات الشذوذات الخَلقِية المتعددة)، فيجب مناقشة التشخيصات التفريقية المتنوعة مع العائلة والمعلومات التجريبية Empirical المتوفرة. إضافة إلى طلب الاستقصاءات الوراثية المتاحة مثل دراسة النمط الصبغي Karyotype، تحاليل سَلسَلة الدنا، إضافة إلى التحاليل البيولوجية الجزيئية.

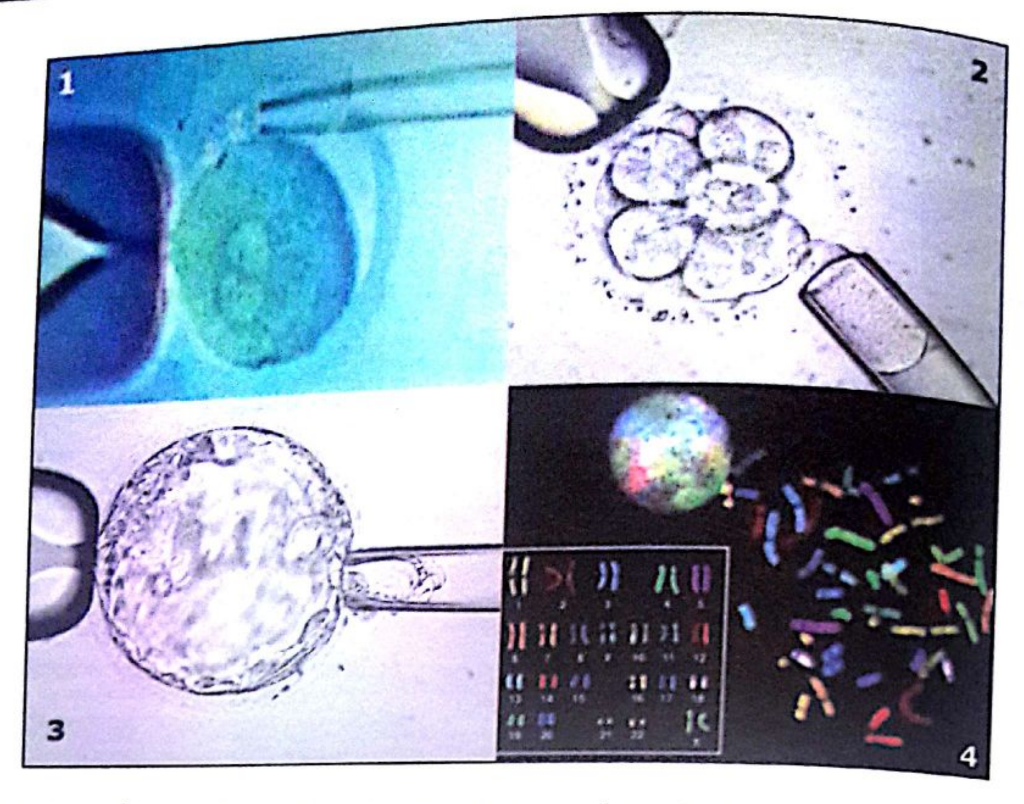
وفي حال وفاة الأشخاص المصابين أو عدم التمكن من مراجعتهم للتقييم السريري، يجب محاولة الحصول على سجلاتهم من مراكز الاستشفاء، التي عن طريقها ربما يمكن التوصل إلى التشخيص الحقيقي.

(جدول 11-1): يوضح الأخطاء والعثرات التي تعترض عمل الاستنصاح الوراثي.

- عدم وجود تشخيص دقيق للمستلفت Proband.
- تشخيص خاطئ أو غير كامل.
- التغاير الجيني الوراثي Genetic heterogeneity.
- عدم النفاذ Non-Penetrance.
- تعبير متغير Variable expression.
- مرض غير موصوف سابقاً.
- التزيق القندي Gonadal mosaicism.
- الطفرات غير المستقرة Unstable mutations.

7.11. التشخيص الوراثي قبل التعشيش (PGD) Pre-implantation Genetic Diagnosis:

تعتبر هذه التقنية الحديثة أحد الخيارات العلاجية للأزواج الحَمَلة لأمراض وراثية محددة أو اضطرابات صبغية معروفة، وتتم باتباع تقانات الإخصاب المساعد Assisted Reproduction Techniques خارج الجسم. إذ يتم إخصاب بويضات الزوجة بنطاف الزوج والوصول إلى مُضَغ Embryos تطورية ثم اعتيان أحد القسيمات الأرومية في مرحلة التويتة الباكرة Early morula أو اعتيان بضع خلايا من الأرومة المغذّية Trophoblast ثم إرسالها للدراسة الوراثية بغية تقصي وجود المرض الوراثي المعروف بالعائلة ليتم استبعاد الأجنة المصابة ونقل الأجنة السليمة إلى الرحم. وفي بعض الأمراض الوراثية القادمة من الزوجة يمكن اعتيان الجسم القطبي الأول First polar body وإجراء الدراسة الوراثية عليه ومن ثم استبعاد البويضات المصابة (**الشكل 11-3**).



(الشكل 11-3): مراحل التشخيص الوراثي ما قبل التعشيش. 1) اعتيان الجسم القطبي الأول، 2) اعتيان القسيم الأرومي، 3) اعتيان الأرومة المغذية، 4) صورة للنمط الصبغي.

8.11. التشخيص قبل الولادة Prenatal Diagnosis:

يشتمل التشخيص قبل الولادي على جميع التحاليل في المضغة Embryo والجنين Fetus. يستطبّ إجراء التشخيص قبل الولادي من أجل الحالات الوراثية في نحو 8% من جميع حالات الحمل. ويمكن للتشخيص قبل الولادي أن يقدم نوعاً من الطمأنينة للزوجين اللذين لديهما نسبة خطورة مرتفعة لأمراض وراثية خطيرة، والتي لولا التشخيص قبل الولادي لأحجَمَ الكثير من الأزواج عن التورط في إنجاب النسل. من الناحية العملية، يقدم التشخيص قبل الولادي في 93% من الحالات إعادة الطمأنينة للأزواج المعنيين، ومهما كان سبب طلب الاختبار، فمن الأهمية شرح الخطوط العريضة للزوجين في حدود الاختبار المطلوب وتذكيرهم أنه لا يوجد اختبار واحد ولا حتى مجموعة من الاختبارات التي يمكنها استبعاد كل الشذوذات. وفي حال وجود نتيجة اختبار إيجابية تؤدي إلى قرار إنهاء الحمل، فمن المهم جدا إرسال كامل محصول الإجهاض إلى المختبر من أجل تأكيد التشخيص.

يتوفر كثير من طرائق التشخيص قبل الولادة، اعتماداً على الاضطراب الوراثي النوعي. يسمح التصوير بالصدى (فائق الصوت Ultrasound) بتشخيص الشذوذات التشريحية الجنينية مثل عيوب القلب الخلقية.

كما استخدم بزل السلى Amniocentesis والاعتيان الزغابي المشيمائي chorionic villi sampling للحصول على نسيج جنيني لتقصي الشذوذات الصبغية، الاضطرابات الكيميائية الحيوية، ودراسة الدنا **(الشكل 11-4)** و**(الجدول 11-2)**.

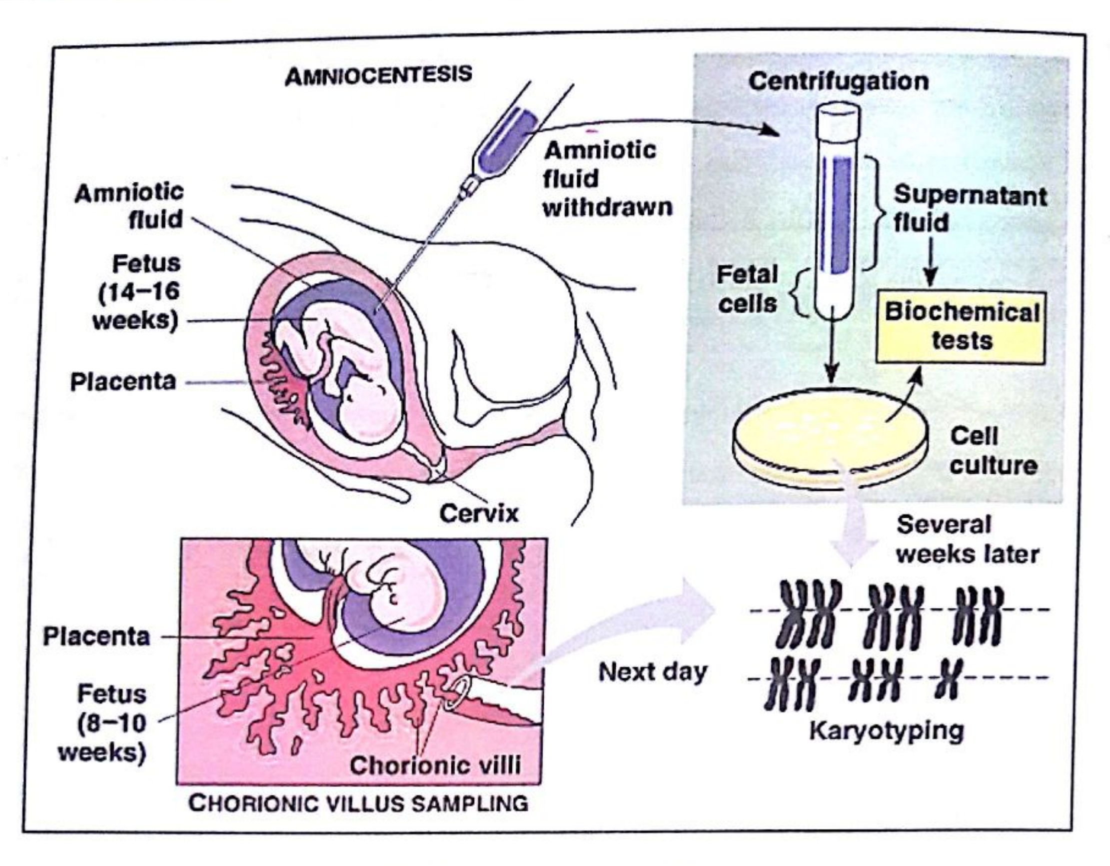
يستخدم اعتيان مصل أو دم الأم من أجل بعض أنماط التقصي الوراثي. كما يمكن الاستحصال على الخلايا الجنينية من الحبل السري أو من الدم الأمومي من أجل الاختبارات الوراثية.

1.8.11 . بزل السلى (Amniocentesis):

يعني بزل السلى سحب كمية من السائل السلوي. غالباً ما يجرى البزل في المدّة بين 12-16 أسبوعاً من الحمل، حيث يوجد نحو180 مل من السائل السلوي، وتكون نسبة الخلايا الميتة عند الذروة، وبالرغم من ذلك، فقد أصبح إجراء البزل بين الأسبوع 12-15 من الحمل يتم بتواتر أعلى، تحت شروط تعقيمية جيدة، وبعد تعيين توضع المشيمة بالتصوير بفائق الصوت **(الشكل 11-4)**، **(الجدول 11-2)**، **(الجدول 11-3)**.

(الجدول 11-2): تقنيات التشخيص قبل الولادي.

تقنيات باضعة	تقنيات غير باضعة
بزل السلى أخذ عينات من الزغابات المشيمائية بزل الحبل السري خزعات من الجنين (جلد، كبد...)	التصوير بفائق الصوت أنواع أخرى من التصوير الشعاعي فحص خلايا الجنين في دوران الأم



(الشكل 11-4): التشخيص الوراثي قبل الولادة.

(الجدول 11-3): الاختبارات المجراة على خلايا سائل السلى وعلى الجزء الطافي منه.

- تعيين جنس الجنين.
- تعيين النمط النووي للجنين.
- مقايسات الكيماء الحيوية لدى الجنين. (مقايسات الإنزيمات في الجنين)
- تشخيص الدنا الجنيني.

2.8.11 . اعتيان الزغابات المشيمائية (Chorionic Villi Sampling):

يجرى أخذ عينات من الزغابات المشيمائية للجنين منذ الأسبوع العاشر من الحمل وبعد ذلك. وقد أصبحت هذه التقنية متوفرة في معظم مراكز طب الجنين.

عادة ما تؤخذ الخزعة تحت توجيه التصوير بفائق الصوت، ويتم ذلك عبر جدار البطن أو عبر المهبل. توفر كل خزعة نحو 5–30 ملغ من النسيج، يمكن استغلالها لإجراء فحوص تعيين الجنس، وكذلك تعيين النمط النووي، وإجراء اختبارات الكيمياء الحيوية، وتحاليل الدنا. يمكن إجراء التحاليل المباشرة لصبغيات الجنين في خلال 24 ساعة، ولكن بسبب مشكلة التزيّق في عينات الزغابات المشيمائية، يفضل دائماً أن يُتبَع هذا التحليل المباشر للصبغيات بتحليل آخر يتم على الخلايا المزروعة من العينة بعد 2–3 أسابيع (عينة مقدارها 5 ملغ عادة ما تكون كافية لتحليل الصبغيات). أما تحاليل الدنا أو تحاليل الكيمياء الحيوية فيمكن أن تتم في غضون أسبوع إلى أسبوعين، غالباً دونما حاجة لزرع الخلايا من العينات.

يقتصر ظهور معظم حالات التزيق الموجودة في عينات الزغابات المشيمائية على المشيمة، ولا تعبّر عن التزيق في الجنين، وقد يحتاج الأمر إلى بزل السلى لاحقاً في 1–2% من المرضى الذين أخذ منهم عينات سابقة، من أجل المساعدة على تأكيد ذلك.

3.8.11 . بزل الحبل السري، وأخذ خزعة من جلد أو كبد الجنين
Cordocentesis, fetal skin biopsy & fetal liver biopsy

تحت توجيه التصوير بفائق الصوت، يمكن تمرير إبرة دقيقة عبر جدار البطن في داخل الحبل السري، أو من المشيمة من أجل أخذ عينة من دم الجنين، أو من أجل عمل نقل دم للجنين حينما يكون داخل الرحم. يمكن إجراء هذا الاختبار منذ الأسبوع الثامن عشر من الحمل وما بعده. يكون معدل إسقاطات الجنين جراء هذا الاختبار نحو 1%. توجد أيضاً خطورة من حدوث نزف بين الجنين والأم، مع حدوث أو المساعدة على حدوث تمنيع إسوي رَيْصي عند الأم.

يمكن تشخيص بعض اضطرابات الجلد الخطيرة مثل انحلال الجلد الفقاعي Epidermolysis bullosa بوساطة أخذ خزعة من جلد الجنين عن طريق منظار الجنين (Fetoscope)، وفي بعض حالات الاضطرابات الاستقلابية التي تحدث عرضياً، يعتبر أخذ خزعة من كبد الجنين ضرورة من أجل التشخيص.

4.8.11 . الخلايا الجنينية في الدورة الدموية للأم (Fetal cells in the maternal circulation)

يوجد الكثير من الشواهد على أن عدداً قليلاً من الخلايا المنواة للجنين تمر إلى الدورة الدموية للأم طوال فترة الحمل. تشمل هذه الخلايا، الكريات البيضاء للجنين، والخلايا الحمراء المنواة، وخلايا الأرومة الغاذية (المغذية) Trophoblastic cells.

والمحاولات جارية على قدم وساق للحصول على وفرة من الخلايا الجنينية بقصد تحقيق تشخيص قبل الولادة باستعمال تحاليل الدنا عن طريق تفاعل سلسلة البوليمراز (PCR) Polymerase chain Reaction، أو بطرق التهجين التألقي في الموضع Fluorescence *in situ* hybridization. حتى الآن ليست هذه التقنية بالكفاءة التي يمكن الاعتماد عليها لتشخيص اختلال الصيغة الصبغية Aneuploidy، ولكن يعتبر التقدم واعداً بالنسبة لتلك التقنية. ولأنها طريقة غير باضعة يمكن الاعتماد عليها في التشخيص قبل الولادي، فلا بد أن تكون لها الأفضلية على جميع الطرق الحالية.

9.11. اختطار الرجعة وطرز الوراثة Recurrence Risk and Patterns of Inheritance:

تعدّ المظاهر الوراثية للحالة واختطار الرجعة (وهو معدّل عَوْدْ توارد المرض في الذرية) من المعلومات المهمة للعائلة لأن كل أفراد العائلة تحتاج إلى معرفة خياراتها التوالدية. ويمكن شرح وراثيات الاضطراب بمساعدات بصرية (مثل صور الصبغيات) ومن المهم شرح نسبة الحدوث واختطار الرجعة بشكل دقيق من أجل مختلف أفراد العائلة، بما فيهم الأفراد غير المصابين. وفي الحالات التي لا يمكن فيها وضع تشخيص نهائي، فإنه من الضروري استخدام اختطارات رجعة تجريبية.

يجب أن يعطي الاستنصاح الوراثي الأفراد المعلومات الضرورية لفهم الخيارات المتنوعة لاتخاذ قراراتهم المستنيرة الخاصة بهم فيما يتعلق بالحمول، التشخيص قبل الولادة، إنهاء الحمل. ولإتمام هذا الجزء من العملية التثقيفية قد يكون ضرورياً الحصول على أكثر من جلسة استنصاح واحدة.

1.9.11 . الاضطرابات الوراثية حيال العائلية Genetic vs Familial Disorders:

يعتمد تشخيص الاضطراب الوراثي على طراز سريري محدد بأعراض وعلامات مميزة للحالة، أو على التأكيد المخبري للجين المتبدل أو لمنتجات الجين المترافقة مع الاضطراب. غالباً ما يُدعَم التشخيص من خلال إدراك طراز الوراثة ضمن العائلة.

من المهم التمييز بين الأمراض الوراثية والعائلية. الاضطراب الوراثي هو ما كان سببه بالكامل أو جزئياً اختلال المادة الوراثية. تحدث بعض الاضطرابات الوراثية عند عدد من أفراد العائلة، وتحدث أخرى بشكل فُرادي عند أفراد وحيدين في العائلة دون حالات رجعة. الاضطراب العائلي هو ذلك الذي يكون أكثر شيوعاً في أقارب الفرد المصاب منه في عموم السكان. تكون بعض الاضطرابات العائلية موروثة، بينما تنتج أخرى بسبب التعرض البيئي (التسمم بالرصاص). لا يساعد إدراك طراز الوراثة في التشخيص السريري فقط، وإنما يوفر أيضاً المعلومات من أجل استنصاح أفراد العائلة حول اختطار الرجعة في الحمول القادمة.

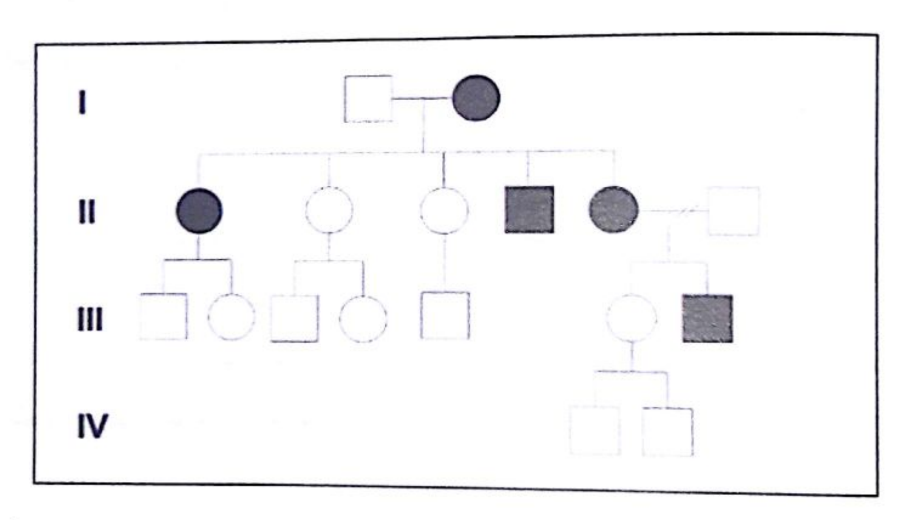
2.9.11 . الوراثة الصبغية الجسدية السائدة Autosomal Dominant Inheritance:

الجينات الصبغية الجسدية autosomal هي التي تكون على واحد من الصبغيات الـ 22 غير الجنسية، والاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة هي تلك التي تكون فيها جين وحيدة في حال متغاير الألائل كافيةً لكي تسبب النمط الظاهري. تبدي الاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة بعض الملامح التي تسري في معظم الأحوال:

1. يظهر الاضطراب على طراز عمودي في شجرة النسب، حيث يوجد أفراد مصابون في كل جيل.
2. لدى أي طفل من والد مصاب اختطار 50% لوراثة الاضطراب.
3. لا ينقل أفراد العائلة الأسوياء نمطياً ظاهرياً phenotypically الحالة لنسلهم.
4. يصاب الذكور والإناث بشكل متساوٍ.
5. تنتج نسبة مهمة من الحالات عن طفرة جديدة.

يمكن تمييز الاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة عن الحالات المرتبطة بالصبغي X من خلال ظهور الانتقال من ذكر لذكر في الجيل الأول (**الشكل 11-5**). بسبب نقل الرجال للصبغي Y، وليس الصبغي X لأبنائهم الذكور فإن الوراثة المرتبطة بالصبغي X تنفى إذا مر المرض الوراثي من الأب إلى ابنه. تبدي الاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة وبشكل نموذجي اختلافاً كبيراً في النمط الظاهري بين أفراد العائلة المصابين. ينجم هذا وبشكل شائع جداً عن التعبّر Expressivity المتغير للجين الطافر. إن السبب الدقيق للتعبّر المتغير مجهول لكن تترافق على الأرجح مع تأثير الجينات المحوِّرة والبيئة على النمط الظاهري. في بعض العائلات، لا يملك حملة الأليل السائد مظاهر نمطية ظاهرية واضحة للحالة. يسمى ذلك انتفاذ ناقص reduced penetrance وهوظاهرة "الكل أو اللا شيء". في بعض

الحالات، عندما يبدو أن فرداً غير نافذ Non Penetrant فقط، يُظهر المريض في الواقع إما تزيقاً جسدياً Somatic mosaicism منخفض الدرجة أو تزيق الخط الانتاشي germ line للجين.
ينشأ التزيق الجسدي في المضغة من طفرة في خلية جسدية إذ تُظهر المضغة في خلاياها مزيجاً من الأنماط الجينية بعضها مع وأخرى بدون الطفرة. يظهر هؤلاء الأفراد وبشكل نموذجي تأثيراً قليلاً أو معدوماً للجين المتبدل. ينشأ تزيق الخط الإنتاشي في المضغة أيضاً بعد الإخصاب وهو محصور في تلك الخلايا التي هي طلائع البيوض أو النطاف. لوحظ تزيّق الخط الإنتاشي وبشكل شائع في حالات مثل تكون العظم الناقص ومتلازمات تعظّم الدروز الباكر: متلازمتا أبيرت وكروزون.
لأن جرعة واحدة فقط من الجين المتبدل ضرورية للتعبير عن النمط الظاهري في الاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة، فإنه غالباً ما تعقب الحالة طفرة جديدة عند كثير من الأفراد المصابين. كلما كان الاضطراب وخيماً ارتفعت النسبة المئوية للحالات الناجمة عن طفرات جديدة للجين. في الاضطرابات الوخيمة، يحدّ نقص القدرة التوالدية من نقل الجين من جيل لجيل. لوحظ في بعض حالات الطفرة الجديدة أن عمر الأب متقدم (>40 سنة).



(الشكل 11-5): شجرة نسب تعرض وراثة نموذجية لشكل من الصَمم الحسي العصبي الموروث كخلة صبغية جسدية سائدة.

3.9.11 . الوراثة الصبغية الجسدية المتنحية Autosomal Recessive Inheritance:

إن الوراثة الصبغية الجسدية المتنحية هي تلك التي تكون فيها الأليلان المتنحيان لجين معينة (في حالة زيجوت متماثلة الألائل) ضروريان لكي يحدث النمط الظاهري. يتطلب ذلك أن يكون كلا والدي الفرد المصاب حاملَيْن متغايري الألائل بالنسبة للجين أو مصابَيْن. بشكل عام، إن الاضطرابات الصبغية

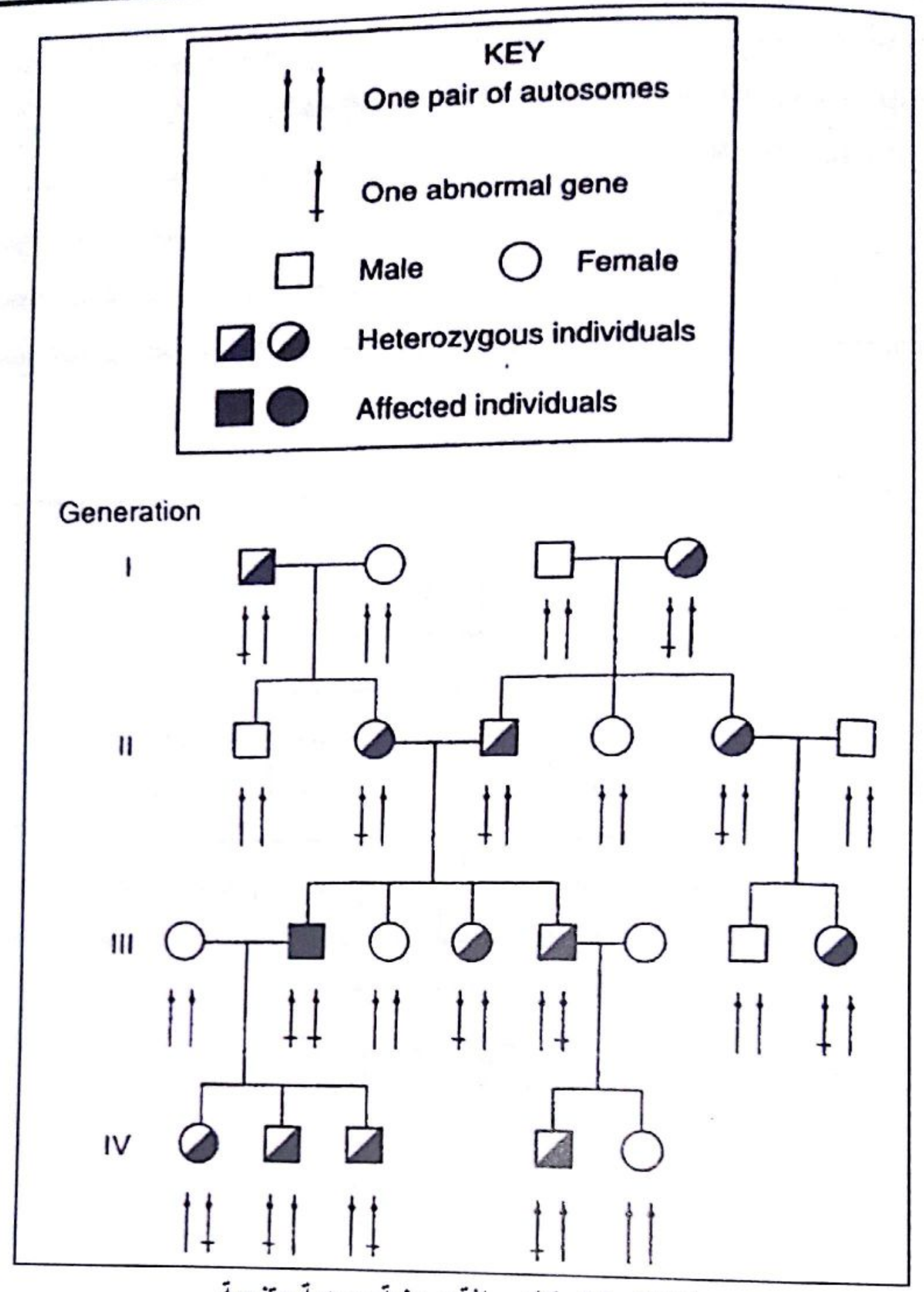
الجسدية المتنحية هي أقل شيوعا من الحالات الصبغية الجسدية السائدة، رغم أن تواتر الحامل للعديد من مثل هذه الجينات في الحالة متغايرة الألائل قد تكون شائعة في عموم السكان.

تعرض شجرة النسب التي توضح بالرسم هذا الطراز من الوراثة (**الشكل 11-6**) المميزات التالية: لدى طفل لوالدين متغايري الألائل فرصة 25 % لكي يكون الطفل ذا زيجوت متماثلة الألائل (أي فرصة من اثنتين ليرث الجين الطافر من كل والد: 1\2 * 1\2 = 1\4)، يصاب الذكور والإناث بتواتر متساوٍ، يكون الأفراد المصابون مولودين في جيل واحد فقط من العائلة، ويكون جميع أطفال الشخص المصاب (ذي زيجوت متماثلة الألائل) متغايري الألائل، يمكن أن يكون أطفال ذي الزيجوت متماثلة الألائل مصابين فقط إذا كان الزوج متغاير الألائل وهو حدث نادر بسبب الوقوع incidence المنخفض لمعظم الجينات المتنحية الضارة في عموم السكان.

من المرجح أن يملك كل إنسان عدداً من الجينات المتنحية الضارة النادرة لكون هذه الجينات الطافرة وبشكل كبير غير قابلة للتعرف عليها من خلال الاختبارات المخبرية، فمن المعتاد أن يعلم الكاهل Adult متغاير الألائل بجيناته المتنحية المؤذية بعد ولادة طفل ذي زيجوت متماثلة الألائل (ومن ثم مصاب). ومن المرجح كثيراً أن يكون الوالدان ذوا القربى متغايري الزيجوت من أجل نفس الجينات المتنحية المؤذية لأنهم يملكون الجد المشترك نفسه.

تُظهر الاضطرابات الصبغية الجسدية المتنحية بعض الملامح التي تنطبق في معظم الأحوال:

1. تملك الاضطرابات الصبغية الجسدية المتنحية طرازاً أفقياً في شجرة النسب (إذا أصيب أكثر من عضو في العائلة، فهم وبشكل نموذجي أشقاء المستلفت، وليسوا والدين أو أقرباء آخرين).
2. يصاب الذكور والإناث بشكل متساو.
3. يكون والدا الطفل المصاب حاملين متغايري الألائل عديمي الأعراض بالنسبة للجين.
4. إن اختطار الرجعة بالنسبة للأشقاء 25%.

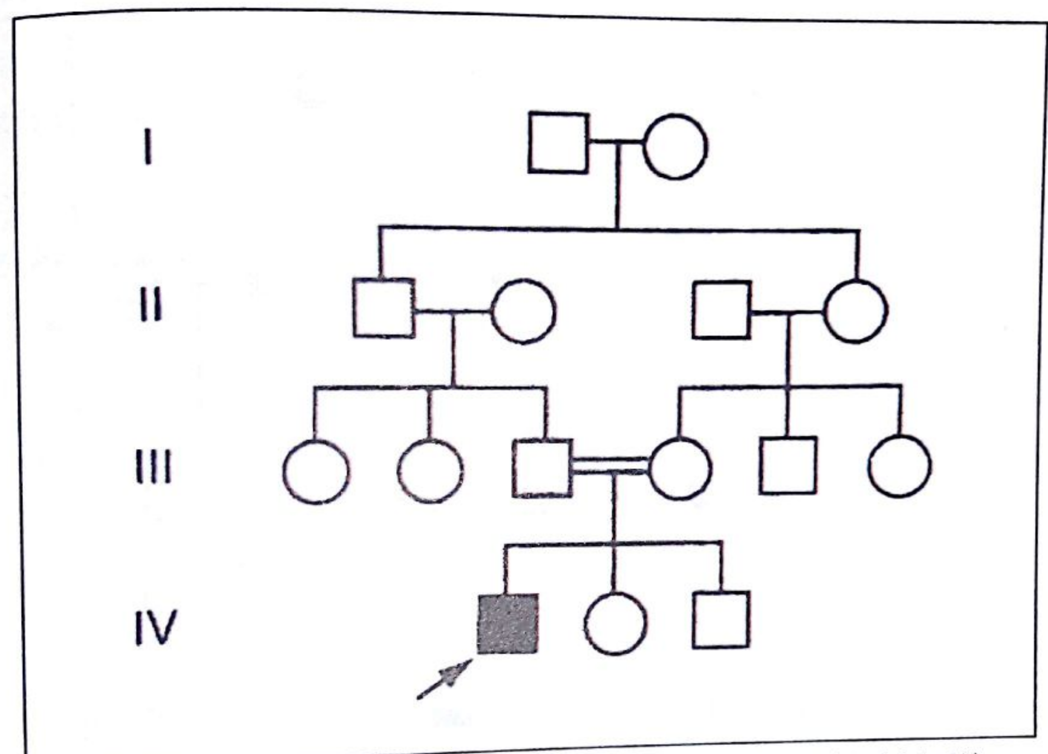


(الشكل 11-6): وراثة صبغية جسدية متنحية.

4.9.11 . القربى Consanguinity :

تزداد فرصة أن يحمل كلا الوالدين الأليل الطافر نفسه إذا كان الزوج ذو قربى (**الشكل11-7**). تعَرف القربى Consanguinity بالانحدار من جد مشترك. تدل القربى بين والدي الطفل المصاب باضطراب وراثي مشتبه به على الوراثة الصبغية الجسدية المتنحية (لكن لا تبرهن). ورغم أن زيجات القربى غير شائعة في المجتمع الغربي، تكون في بعض أجزاء العالم شائعة (جنوب الهند، والباكستان، والشرق الأوسط). يبلغ الاختطار في نسل زواج أولاد العم أو الخال أو العمة أو الخالة (6-8%)، وهو نحو

ضعف الاختطار في عموم السكان (3-4%). يوجد بعض المعزولات الجينية Genetic isolates (جمهرات صغيرة منفصلة بسبب الجغرافيا، أو الدين، أو الثقافة، أو اللغة) تكون فيها الاضطرابات النادرة أكثر شيوعاً من عموم السكان. حتى ولو لم تكن القربى شائعة عند هذه الجمهرات، لأن خيارات التزاوج محدودة، فإن فرصة أن يكون لدى زوجين، ضمن هذه المجتمعات المعزولة، طفلاً لديه حالة صبغية جسدية متنحية قد تكون مرتفعة إلى الحد الذي نراه في زيجات أولاد العم من الدرجة الأولى. لقد تطورت برامج التقصي عند مثل هذه الزمر للتعرف على متغايري الألائل ذوي الاختطار لامتلاك أطفال مصابين.



(الشكل11-7): شجرة نسب توحي فيها قربى الوالدين بوراثة صبغية جسدية متنحية.

5.9.11. الوراثة المرتبطة بالصبغي X، X-Linked Inheritance:

إن الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X هي تلك المترافقة مع جينات متبدلة على الصبغي X. تُظهر معظم الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X طراز وراثة متنحي، لكن وصفت بشكل جيد حالات قليلة سائدة. تختلف مميزات الحالات المرتبطة بالصبغي X بشكل كبير عن الاضطرابات الصبغية الجسدية لأن الإناث يرثن نسختين من الصبغي X، فقد يكنّ متغايرات الألائل أو نادراً متماثلات الألائل من أجل أي أليل في موضع معين، وهكذا تسلك الجينات المرتبطة بالصبغي X عند الإناث كجينات الصبغيات الجسدية. بسبب تعطيل X (وهي عملية عشوائية تحدث باكراً في تخلّق المضغة الأنثى)، فإن صبغي X

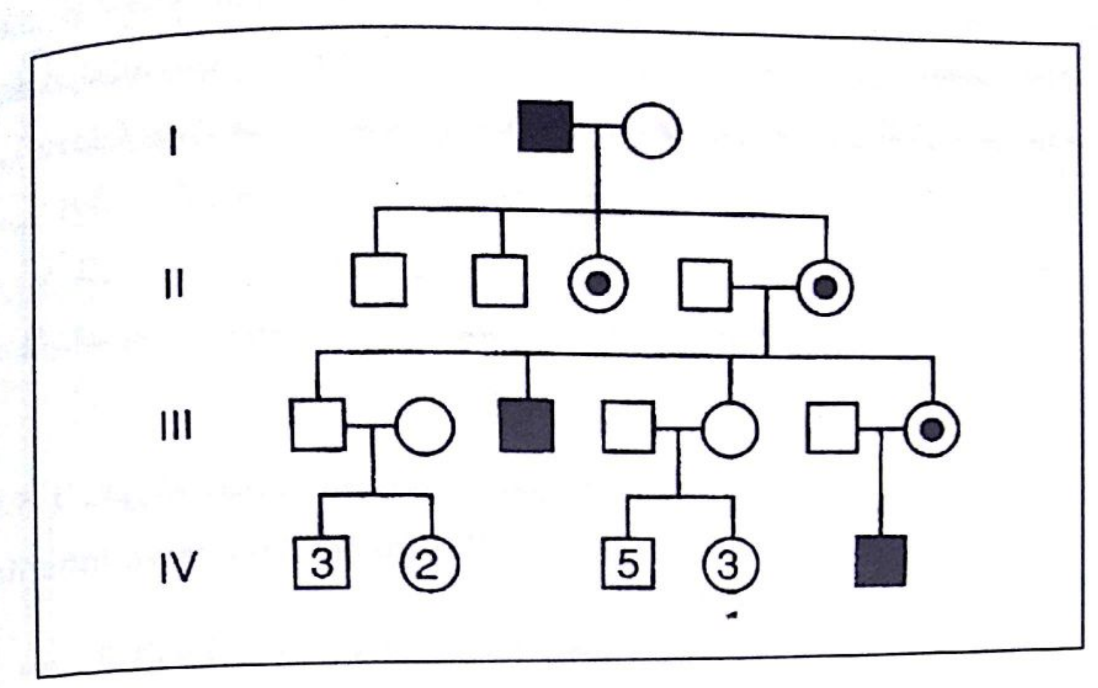
واحد فقط يكون نشيطاً في كل خلية. ومن ثم، سوف تنتج الأنثى التي تكون متغايرة الألائل من أجل أليل طافر مرتبط بالصبغي X 50% من المقدار الطبيعي، بشكل مماثل لحالة متغايرة الألائل الصبغية الجسدية المتنحية. يكفي هذا عادة من أجل تشكّل نمط ظاهري طبيعي. لأن الذكر يرث صبغي X واحد فقط، فهو فرداني الأليل من أجل كل الجينات الموجودة في كل المواضع على طول الصبغي، ويتم التعبير عن كل الجينات. إذا ورث ذكر جيناً متبدلاً مرتبطا بالصبغي X ، فإنه سوف يعبر عن هذه الحالة، لأن الصبغي Y لا يحوي أليلاً طبيعياً لكي يعاوض الجين الطافر.

1.5.9.11 . الوراثة المتنحية المرتبطة بالصبغي X
:X-Linked Recessive Inheritance

تنطبق بعض الملامح في معظم أحوال الوراثة المتنحية المرتبطة بالصبغي X:

1. إن وقوع الحالة هو أكثر عند الذكور منه عند الإناث.
2. الحملة الإناث متغايرات الزيجوت هن عادة غير مصابات.
3. تنتقل الجين من رجل مصاب إلى كل بناته، ويملك أي من أبناء بناته فرصة 50% لوراثة الجين.
4. لا تنتقل الجين أبداً من الأب إلى ابنه.
5. قد تنتقل الجين عبر سلسلة من الإناث الحاملات. في تلك الحالة، يكون جميع الذكور المصابين ذوي قربى من خلال الإناث الحاملات.
6. تكون نسبة كبيرة من الحالات الفُرادية تالية لطفرات جينية جديدة (**الشكل11-8**).

توجد أحوال قد تكون فيها الإناث مصابات بحالات متنحية مرتبطة بالصبغي X. إذا حمل كلا الوالدين أليلاً متنحياً مرتبطاً بالصبغي X ، فإنه يمكن لفتاة أن ترث الجين المتبدل في حالة متماثلة الألائل. لكن، بسبب ندرة معظم الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X المتنحية، فإن هذه الحالة غير مرجحة (باستثناء في حالة القربى). إذا كان لدى فتاة متلازمة تيرنر (45X)، تكون فردانية الألائل بالنسبة لكل جينات الصبغي X، وتعبّر عن كل جيناتها في كل المواضع بشكل مماثل للذكر. وهكذا، إن الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X هي أكثر شيوعا عند الإناث المصابات بمتلازمة تيرنر. في النهاية، وبسبب كون تعطيل X عشوائياً، فإنه يتبع توزعاً سوياً في المضغة. ومن ثم، سوف يكون هناك قلة من الإناث اللواتي لديهن بالمصادفة أحد صبغيي X معطلاً بشكل كامل تقريباً. كثيراً ما يلاحظ هذا الطراز المتجانف skewed من تعطيل X عند الإناث اللواتي يبدين اضطرابات متنحية مرتبطة بالصبغي X .

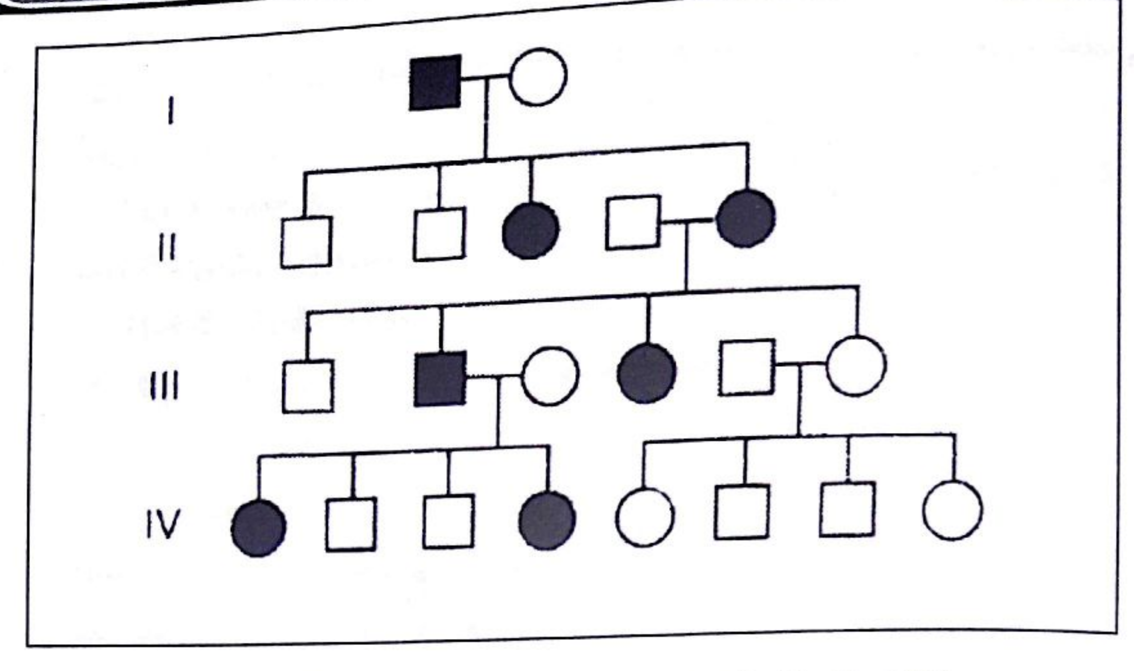


(الشكل11-8): طراز شجرة نسب يظهر اضطراباً متنحياً مرتبطاً بالصبغي X مثل الناعور A، منتقل من ذكر مصاب عبر إناث إلى الحفيد وابن الحفيد.

2.5.9.11. الوراثة السائدة المرتبطة بالصبغي X X-Linked Dominant Inheritance:

يوصف الاضطراب المرتبط بالصبغي X بالسائد إذا عُبّر عن الحالة بشكل منتظم عند الإناث الحاملات متغايرات الألائل. تضم مميزات الوراثة السائدة المرتبطة بالصبغي X:

1. تصاب بالحالة جميع بنات الرجل المصاب دون أن يصاب أي ابن.
2. لدى نسل الإناث المصابات سواء الإناث أم الذكور اختطار 50% لوراثة الحالة.
3. في الحالات السائدة المرتبطة بالصبغي X النادرة، تكون الإناث المصابات نحو ضعف الذكور المصابين، لكن لدى الإناث المصابات وبشكل نموذجي مظاهر أخف، رغم أنها متغايرة في النمط الظاهري (**الشكل11-9**).



(الشكل 11-9): طراز شجرة نسب تظهر وراثة سائدة مرتبطة بالصبغي X.

6.9.11. الوراثة المتعددة العوامل Multifactorial Inheritance:

إن معظم الشذوذات الخلقية المعزولة الشائعة (عيوب الأنبوب العصبي، الشفة المشقوقة، شفة مشقوقة وفَلَح حنكي معزول، حَنَف القدم club feet، وعيوب حاجزية قلبية)، والكثير من الاضطرابات الشائعة في حياة الكاهل (مثل الداء السكري، فرط ضغط الدم، السكتة Stroke، داء الشريان التاجي، الفصام) هي موروثة بطريقة متعددة العوامل. إن الاضطرابات المحدَّدة على أنها متعددة العوامل هي تلك التي تكون نتاج عوامل متعددة لا جينية. إن العوامل الجينية المؤهبة لهذه الاضطرابات متغايرة المنشأ ومجهولة بشكل كبير.

تضم مميزات الاضطرابات المحدَّدة على أنها متعددة العوامل التالي:

1. يوجد معدل اختطار رجعة متشابه (3-5%) بين جميع أقرباء الدرجة الأولى (الوالدان، الأشقاء، ونسل الطفل المصاب). لكن من غير المعتاد أن نجد زيادة مهمة في الاختطار عند الأقرباء الأكثر بعداً من الدرجة الثانية بالنسبة للحالة الدالة index case.
2. يرتبط اختطار الرجعة بوقوع الداء.
3. لدى بعض الاضطرابات ميل للجنس، كما يشار إليه بوقوع ذكر: أنثى غير متساوي. إن تضيق البواب أكثر شيوعاً عند الذكور، بينما يكون خلع الورك الولادي أكثر شيوعاً عند الإناث. حيث توجد نسبة جنس متبدلة، يكون الاختطار أعلى بالنسبة لأقرباء الحالة الدالة في الجنس ذي الإصابة الأقل شيوعاً. إن اختطار إصابة ابن أنثى مصابة بتضيق بواب طفلي هو 18%

بالمقارنة مع 5% اختطار إصابة ابن ذكر مصاب. لقد مرّرت الأنثى إلى نسلها استعداداً جينياً أكبر.

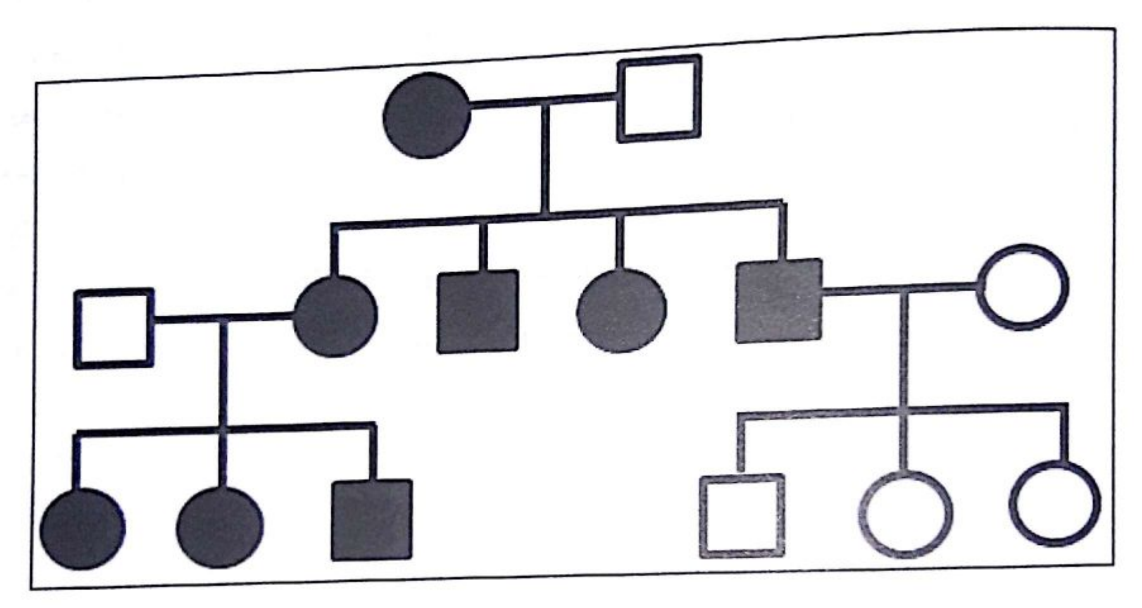
4. إن أرجحية إصابة كلا التوءمين المتماثلين Identical twins بنفس التشوه هي أقل من 100% لكن أكثر من فرصة إصابة التوءمين غير المتماثلين. يتراوح تواتر التواؤم في التوءمين من 21% إلى 63%. يتعارض هذا التوزع مع ذلك الذي في الوراثة المندلية التي يتشارك فيها دائماً التوءمان المتماثلان باضطراب ناجم عن جين وحيد طافر.
5. يزداد اختطار الرجعة عندما يكون أفراد متعددون في العائلة مصابين، غالبا ما تكون هذه الحالات إشكالية من حيث تمييز السببيات المتعددة العوامل عن المندلية. مثال بسيط: إن اختطار رجعة الشفة المشقوقة والفلح الحنكي الوحيد الجانب هو 4% في حالة زوجين عندهما طفل مصاب، ويزداد إلى 9% في حال وجود طفلين مصابين.
6. قد يكون اختطار الرجعة أكبر عندما يكون الاضطراب أكثر وخامةً. لدى الرضيع الذي عنده داء هيرشبرينغ طويل القطعة القولونية المصابة بفقد التعصيب فرصة أكبر ليصبح عنده شقيق مصاب من الطفل الذي لديه داء هيرشبرينغ قصير القطعة.

7.9.11. طُرُز الوراثة غير التقليدية Nontraditional Patterns of Inheritance:

تورث الاضطرابات الوراثية في بعض الأحيان بطرائق لا تتبع فيها الطرز العادية من وراثة سائدة، أو متنحية، أو مرتبطة بالصبغي X، أو متعددة العوامل. تشمل هذه الطرز اللانموذجية للوراثة في بعض الأحيان أمراضاً معينة، وفي أمثلة أخرى قد تنطبق على أي اضطراب وراثي. تظهر بعض الأمراض طراز وراثة لا نموذجيةً لأنها تنتج عن طفرات الدنا المتقدري (mtDNA). تحوي المتقدرات صبغيات دائرية صغيرة ترمز 13 بروتيناً تعمل في السلسلة التنفسية. يمكن لطفرات المجين المتقدري (التي هي على الأغلب أخبان) أن تنتج أمراضاً نوعية. تشاهد الشذوذات في هذه الاضطرابات وبشكل نموذجي في عضومعين أو أكثر: الدماغ، العين، العضل الهيكلي، من الأمثلة متلازمة كيرن – ساير واعتلال العصب البصري الوراثي لليبر Leber's. لأن المتقدرات تورث عملياً وبشكل استثنائي من الأم. تمر هذه الحالات من الأم إلى الذُريّة بغض النظر عن جنس الأخير (وهكذا يتم التفريق عن الوراثة المتنحية المرتبطة بالصبغي X).

تسبب طفرات mtDNA مرضاً فقط بوجود الكثير من المتقدرات الطافرة: 50%–60% في حالة أخبان كبيرة وحيدة، و80%–90% في حال طفرات نقطية. لا تتوزع الجمهرات المتقدرية بشكل متساوٍ في كل النسج. تُظهر بعض المتقدرات ميزة تنسخية نسبة للجمهرات المتقدرية الموروثة الأخرى. وهكذا، يوجد

تغير كبير في الأعراض ضمن العائلة، وقد تكون الوراثة المشاهدة أكثر تعقيداً من طراز أمومي بسيط رغم عدم شيوعها، فقد تحدث طفرات mtDNA (الأخبان) من خلال الوراثة الأبوية. إن وجود اعتلال عضلي أو مرض عصبي، يبدو أنه آت من جانب الأم، يجب أن ينبه الطبيب السريري على احتمال وجود سببيات متقدرية. تقليدياً، تخضع متقدرات النطفة للتخرب من قبل البروتينات المرمزة في نواة البويضة. يمكن في حالات نادرة وراثة mtDNA من الأب عندما تملك متقدرات الأب ميزة تنسخية عالية أو يكون تخرب المتقدرات موهناً Attenuated (**الشكل11-10**).



(الشكل 11-10): **طراز شجرة نسب تظهر وراثة متقدرية.**

10.11. معالجة الأمراض الوراثية Treatment of Genetic Diseases:

يوجد اعتقاد خاطئ أن المرض الوراثي دائما لا يمكن معالجته. ولكن في الممارسة العملية، يوجد في متناول اليد علاج عرضي لمعظم الأمراض الوراثية، وبعض هذه المعالجات يمكن أن تعيد الحالة السليمة بشكل فعال، بالرغم من استمرار وجود النمط النووي الشاذ.

1 . 10.11 . الاضطرابات الصبغية Chromosomal Disorders:

بالنسبة لاضطرابات بعض الصبغيات الجنسية، فقد تتيح المعالجة التعويضية بالهرمونات إلى التطور السليم لبعض الصفات الجنسية الثانوية، ولكنها لن تعيد الخصوبة إلى الفرد. عدم التوازن في الصبغيات

الجسدية عادة ما يؤدي إلى الإعاقة الدماغية والكثير من التشوهات الولادية، التي لا يتاح لها إلا تقديم المعالجة العرضية.

2.10.11 . اضطرابات الجين الفرداني Single Gene Disorders:

يوضّح (**الجدول11–4**) بعض اضطرابات الجين الفرداني الأكثر شيوعاً التي قد وجد لها علاج فعال. زيادة على ذلك فقد سمحت تقنيات الهندسة الوراثية في إنتاج مركبات قليلة التكلفة نوعاً ما، (مثل الإنسولين، العامل الثامن، هرمون النمو البشري). ويتواصل العمل في الأبحاث بهدف التمكن من التعويض الجيني، بمعنى آخر إضافة جين وظيفي من الخلايا الجسدية، إلى مريض متماثل الألائل بالنسبة لجين طافر. تمت المعالجة التعويضية الجينية الناجحة لأول مرة في حالة نقص المناعة المشتركة الوخيمة Severe combined immune deficiency الناتجة عن نقص الأدينوزين دي أميناز Adenosine deaminase، وهناك محاولات الآن لاستعمال هذه التقنية في حالات عديدة مختلفة من اضطرابات الجين الفرداني التي ينقصها علاج فعال.

(الجدول 11-4): أمثلة على اضطرابات الجين الفرداني مع تطبيق العلاجات الفعالة.

المرض	العلاج الفعال
فرط التنسج الكظري الولادي	المعالجة الهرمونية التعويضية
بيلة الفنيل كيتون	تحديد الفنيل الانين القوتي (Dietary)
الغلاكتوزيمية	تحديد الغلاكتوز القوتي
الناعور	المعالجة التعويضية بالعامل الثامن
نقص المناعة المشترك الوخيم	زرع نقي العظام
بيلة السيستين (Cystinuria)	تناول كمية كبيرة من السوائل، د-بنسلامين
داء السليلات القولونية (Paplypesis coli)	استئصال القولون
فقد غاماغلوبين الدم (Agammaglobulinemia)	التعويض بالغاماغلوبين
التلاسيمية بيتا	زرع نقي العظام
بيلة حمض المثيل مالونيك	فيتامين B12
داء تعدد الكيسات في البالغين	زرع الكلية
داء ويلسن	د- بنسلامين
فرط الكولسيترول الدم العائلي	الحمية والأدوية
تكور الكريات الحمر الوراثي	استئصال الطحال
داء الصباغ الدموي (Hemochromatosis)	الفصادة المتكررة

3.10.11. الاضطرابات متعددة العوامل Multifactorial Disorders:

يوضح **(الجدول11-5)** بعض الاضطرابات متعددة العوامل الأكثر شيوعاً التي يوجد لها علاجات فعالة ناجحة.

(الجدول11-5): أمثلة على اضطرابات متعددة العوامل، ولها علاج فعال.

المرض	العلاج الفعال
فلح الشفة والحنك	الجراحة
تضيق البواب	الجراحة
الداء القلبي الولادي	الجراحة، والمعالجة الدوائية
مَوَهْ الرأس	الجراحة، والمعالجة الدوائية
الداء السكري	المعالجة الدوائية
فرط الضغط الشرياني	المعالجة الدوائية
الصّرع	المعالجة الدوائية

4.10.11. اضطرابات المتقدرات Mitochondrial disorder:

لا يوجد في الوقت الحاضر إلا المعالجة العرضية للاضطرابات الناجمة عن صبغيات المتقدرات.

5.10.11. الاضطرابات الجينية للخلايا الجسدية Somatic cell genetic disorders:

يعتقد الآن أن معظم –إن لم يكن كل– أنواع السرطانات هي اضطرابات جينية للخلايا الجسدية. توجد بعض المعالجات الشافية لبعضها، ولكثير منها معالجات ملطفة، وبعضها الآخر تكون المعالجة عرضية فقط.

11.12. الاستنصاح والمتابعة Counseling and Follow Up:

يحتاج الاستنصاح الوراثي إلى الإلمام بالحالة من جميع النواحي، ويجب أن يأخذ التعمق في الشرح مستوى ثقافة الزوجين في عين الاعتبار. قد يكون مناسباً أن يبدأ الناصح الوراثي بشرح الملامح السريرية والمضاعفات وسير المرض وعقابيله، ثم الخيارات العلاجية والتكيفية المناسبة، بعد ذلك يمكن شرح الأساس الوراثي وراء المرض وقد يساعد وجود بعض النماذج والأشكال التوضيحية، ثم بعد ذلك يمكن حساب مدى اختطار الرجعة.

يتطلب عدد من الاضطرابات الوراثية عناية اختصاصية محددة مثل متلازمة تيرنر Turner الذي يحتاج إلى التقييم من قبل اختصاصي غدد صمّ. يجب تشجيع العائلات على المتابعة والاستمرار بطلب

الاستنصاح الوراثي لمجاراة المعلومات الجديدة والتطورات الحديثة في تشخيص ومعالجة الاضطرابات الوراثية الخاصة بهم.

يكون الاستنصاح الوراثي غير توجيهيٍّ Non-directive بشكل عام في معظم البلدان المتقدمة ذات الأنظمة الصحية الحديثة. إذ تُترَك خيارات التوالد للعائلة لتقرر الذي يناسبها. إن دور الناصح (طبيب، ممرضة، اختصاصي وراثة طبية) هو توفير معلومات طبية بمصطلحات قابلة للفهم وإيجاز مجال الخيارات المتوفرة.

الفصل الثاني عشر

الوراثيات المناعية

Immunogenetics

المحتويات Contents

1.12. وراثيات الجهاز المناعي السوي (Genetics of the normal immune system):

إن الوظيفة الأولى للجهاز المناعي هي التعرف على المستضدات الغريبة (أي غير المنتمية للجسم نفسه)، ومـن ثـم مهاجمتهـا. وتشـمل هـذه المستضـدات معظـم البروتينـات، وبعـض عديـدات السـكريد (Polysaccharides) والأحماض النووية.

تمتلك الاستجابة المناعية عنصرين أساسيين : خلوي وخلطي، كما يوضحه الشكل المبسط التالي (**الشكل 13-1**). في الاستجابة الخلطية (Humoral) تنتج أضداد نوعية منذ الأسبوع العشرين من الحمل وما يليه، وذلك بتنبيه الخلايا اللمفاوية بيتا، وكذلك الخلايا البلازمية (Plasma cells). الأضداد المتكونة عبارة عن غلوبولينات مناعية (**الشكل 12-2**)، وهي مهمة كاستجابة للعداوى بالجراثيم. أما الاستجابة المناعية الخلوية فتقوم بها الخلايا اللمفاوية التائية، التي إذا نبهت بشكل نوعي، تتحول إلى الخلايا T الفاعلة (T. effector cells). يوجد للخلايا اللمفاوية التائية تحت مجموعات (Subsets)، فبعضها يحفز الاستجابة المناعية (الخلايا T المساعدة أو $CD4^+$)، وبعضها يقلل من الاستجابة المناعية (الخلايا T المثبطة Suppressor) ومنها الخلايا المحطمة (الخلايا T السامة للخلايا $CD8^+$ cytotoxic). تعتبر الاستجابة المناعية الخلوية مهمة في تفاعلاتها نحو الخلايا السرطانية الخبيثة، والأنسجة المزروعة، والميكروبات داخل الخلايا من فيروسات وجراثيم وفطور.

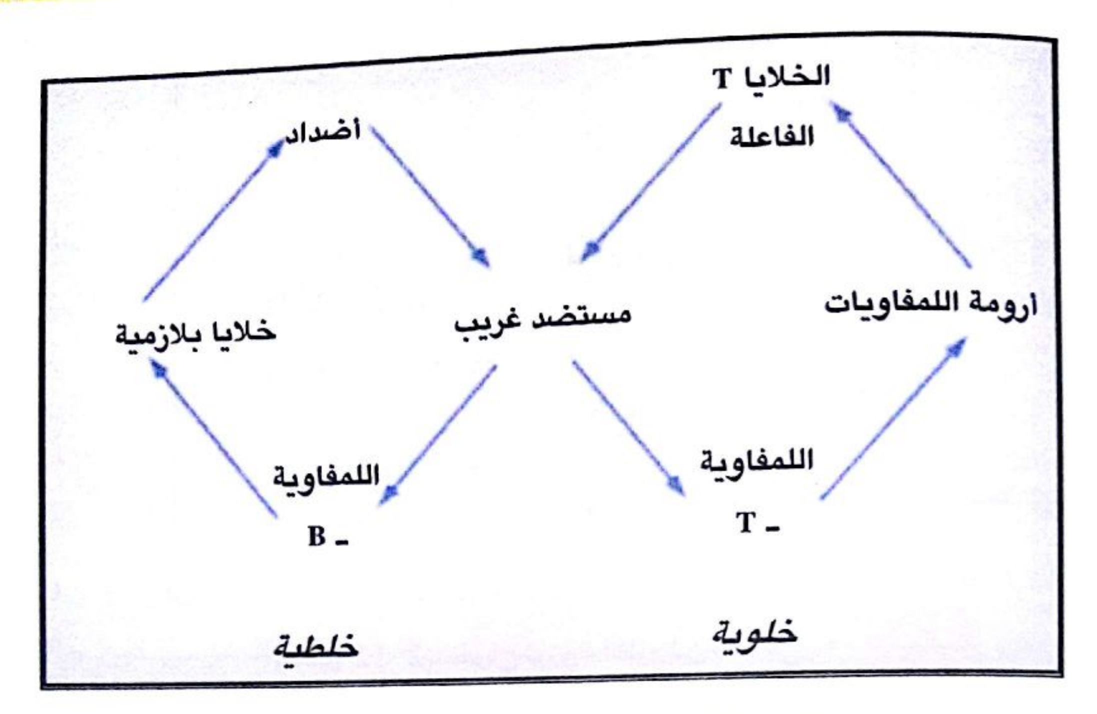
يوجد نمطان للسلاسل الخفيفة : كابا (K) (Kappa)، ولمبدا (L) Lambda. تتشابه السلاسل الخفيفة في جميع أصناف الغلوبولينات المناعية، ولكن كل صنف له النوع المميز الخاص من السلاسل الثقيلة (**جدول 12-1**). تتكون كل سلسلة من الغلوبولينات المناعية من ثلاث مناطق، المنطقة المتغيرة V(Variable region). عند النهاية النتروجينية (N)، وهي جزء من موضع اتحاد الأضداد، والمنطقة الثانية تسمى منطقة التمفصل J (Junctional)، وأخيراً المنطقة الثابتة C (Constant). بجانب ذلك، يوجد في السلاسل الثقيلة منطقة قصيرة بين منطقتي V& J وتسمى منطقة التنوع D (Diversity region).

تتكون عناقيد الجينات (Gene clusters) المسؤولة عن السلاسل الثقيلة من 200 جين بالنسبة لـ (V)، و50 جين بالنسبة لـ (D)، وستة جينات بالنسبة لـ (J) وجين أو أكثر بالنسبة لـ (C) (**الشكل 12-3**). في داخل الخلية البلازمية، وعن طريق عملية تأشيب جسدي (Somatic recombination)، يتوضع جنباً إلى جنب، جين (V) مع جين (D) مع جين (J) مع جين (C)، وتنسخ جميعها إلى جزيء واحد من الرنا المرسال (mRNA). ثم يقص باقي دنا هذه المجموعة، ويعمل كواسم للخلية اللمفاوية بيتا.

يمكن أن تتكون ارتباطات عديدة من VDJ، لينتج عن ذلك 12000 ارتباطاً محتملاً من (VDJ). بجانب ذلك، هناك إمكانية إقحام نوكليوتيدات إضافية عند نقاط الاتصال لهذه الجينات، كما يمكن لهذه الجينات أن تتعرض لطفرات جسدية بعد تكوينها، مما يؤدي إلى زيادة كبيرة في التنوع (Diversity). وبالرغم من أن هذه التأشبات من (VDJ) تبقى ثابتة في الخلية البلازمية، وكل ما ينتج عنها من خلايا، يمكن أن يحدث تحول في الصنف للجين (C)، على سبيل المثال من IgM إلى IgG، ولكن النوعية المستضدية (Antigenic specificity) تبقى دون تغير. يتم ذلك بدءً بالتضفير البديل (Alternative Splicing) للرنا المرسال، ومن ثم إعادة ترتيب الدنا. تتكون مستقبلة الخلية بيتا من الضد (عادة IgM)، ومن ثم فإن الخلية البلازمية التي تستجيب لمستضد مختلف سيكون لها تعبير مختلف من الاتحاد (VDJC).

يكون لدى مجموعة الجينات الخاصة بالسلاسل الخفيفة كابا ولمبدا بنية متشابهة، مكونة من 200 جين (V) و 4 جين (J)، ولكن في المقابل لديها جين واحد (C)، ولا يوجد لديها جين (D) (**الشكل 12-4**). تُنتِج كل خلية بلازمية سلسلة خفيفة واحدة فقط من (VJC)، وتكون إما سلسلة كابا أو سلسلة لمبدا، وليس كلاهما معاً. هذه المقدرة على أن كل مجموعة من الجينات تنتج مجموعة مختلفة من عديد الببتيد، هي استثناء مهم للقاعدة التي تقول إن: لكل جين يوجد عديد ببتيد واحد.

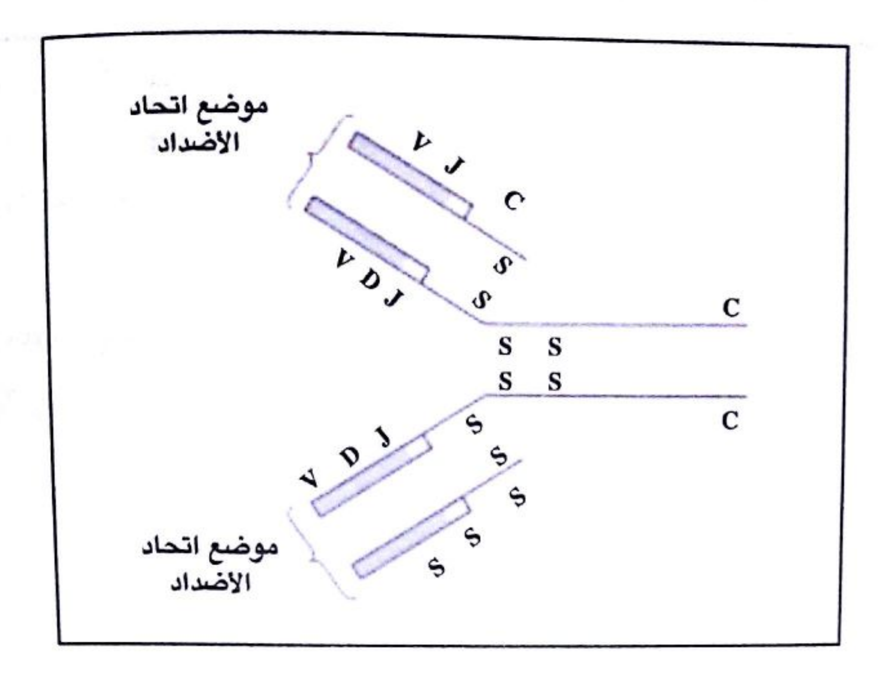
تتعرف اللمفاويات التائية بوساطة مستقبل خاص على المستضدات الغريبة (حينما تُهَيَّأ ومن ثم تقدم لها على سطح خلية أخرى)، وبمصاحبة جزيئات مركب التوافق النسيجي الرئيسي. على الرغم من أن بنية مستقبلات الخلايا التائية تختلف جوهرياً عن مستقبلات الخلايا البائية، فإن البنية الجينية لكلا نوعي المستقبلات متشابهة إلى حد بعيد. تتكون مستقبلات الخلايا التائية من سلسلتين: ألفا وبيتا، ولها على الأقل من الجينات 50 (V)، 50 (J) للسلسلة ألفا، أما السلسلة بيتا فلديها على الأقل 80 جيناً (V)، وواحد أو اثنان من الجين (D) وأخيراً 13 جيناً (J).



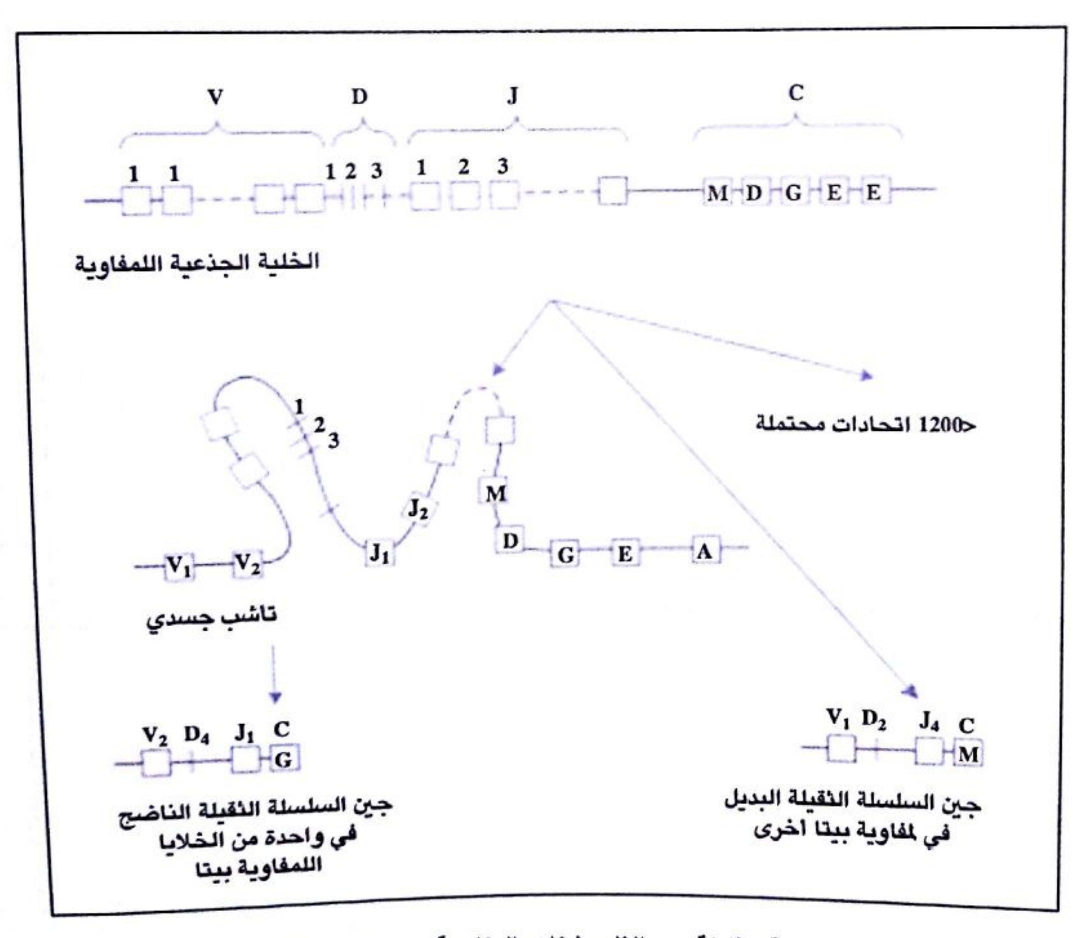
(الشكل 12-1): العناصر المكونة للاستجابة المناعية.

(الجدول 12-1): أصناف الغلوبلينات المناعية.

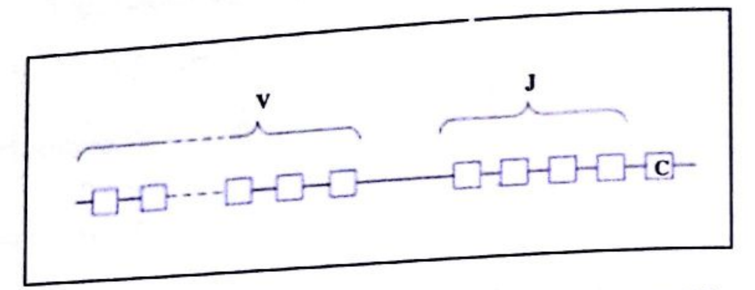
الصنف	الوزن الجزيئي	السلسلة الثقيلة	السلسلة الخفيفة	التعليق
IGg	150000	γ	k أو λ	وفير؛ الصنف الوحيد الذي يعبر المشيمة؛ يظهر في أواخر الاستجابة المناعية.
IgM	900000	μ	k أو λ	يسبق IgG في الاستجابة المناعية
IgA	160000	α	k أو λ	المناعة السطحية
AgD	185000	δ	k أو λ	غير معلوم الوظيفة
AgE	200000	ε	k أو λ	الاستجابة الأرجية



(الشكل 12-2): نموذج لجزيء الغلوبولين المناعي.



(الشكل 12-3): جين السلسلة الثقيلة من الغلوبولينات المناعية، مع تكوين التسلسل للأضداد المختلفة.



(الشكل 12-4): جين السلسلة الخفيفة من الغلوبولينات المناعية.

2.12. العوز المناعي الوراثي (Inherited immunodeficiency):

يمكن أن تحدث العيوب الوراثية في أي واحد من الاستجابتين المناعيتين (الخلطية والخلوية) أو في كليهما. تعتمد الأعراض والعلامات على ما تبقى من آليات دفاع لدى الفرد. وعلى الرغم من كون حالات العوز المناعي نادرة، فإنها تظهر تغايراً وراثياً (Genetic heterogeneity) كبيرا، تكون فيه عيوب تكوين الأضداد الأكثر شيوعاً (حوالي 50 %)، إضافةً إلى عيوب في الخلايا البلاعم Phagocytes (6%)، وعيوب في بروتينات المتممة (4%)،إضافةً إلى عيوب في الطهاية (البلعمة المتواسطة بالأضداد) (5-7%). يُظهر الجدول (12-2) عدداً من حالات العوز المناعي الوراثي مع طرز وراثتها.

(الجدول 12-2): عوز المناعة الوراثي.

(AR: Autosomal Recessive, XR: X-linked recessive, AD: Autosomal Dominant)

المرض	طراز الوراثة
نقص الوراثة المشترك الوبيل	AR,XR
فقد الجاما جلوبيولين من الدم	XR (أنواع مختلفة) AR,occ
متلازمة وسكوت - الدريتش	XR
الداء الحبيبومي المزمن	XR, occ, AR
متلازمة شيدياك - هيجاشي	AR
رنح توسع الشعيرات (Ataxia telangiectasia)	AR
متلازمة دي جورج	خبن صغري في الصبغيات
فقد البروبردين (Properdin deficiency)	XR
متلازمة التكاثر اللمفاوي (Lymphoproliferative syndrome)	XR
عيب الطهاية (Opsonic defect)	AD

وسنقتصر في هذا الفصل على الحديث عن مثالين عن أهم تطبيقات المناعيات الوراثية يختصان بنقل الدم وزرع الأنسجة.

12. 3. نقل الدم Blood Transfusion

1.3.12. الزمر الدموية (Blood groups):

تحدد الزمر الدموية عن طريق مستضدات بروتينية على سطح الكريات الحمراء. لقد تم وصف نحو 400 مستضد للزمر الدموية، ومن كل هذه الزمر تعتبر مجموعة ABO والمجموعة الريصية أهمها جميعاً.

توجد أربعة أنماط ظاهرية رئيسية (Phenotypes) هي: (O، A، B، AB) التي يمكن تعيينها عن طريق التفاعل بين الخلايا الحمر للفرد: بإضافة أضداد A وأضداد B نوعية (**الجدول 12-3**).

(الجدول 12-3): **الأنماط الظاهرية للزمر الدموية ABO.**

التفاعل مع مصول مضادة نوعية		
مضاد (B)	مضاد (A)	النمط الظاهري للكريات الحمر
(-) سلبي	(-) سلبي	(O)
(-) سلبي	(+) إيجابي	(A)
(+) إيجابي	(-) سلبي	(B)
(+) إيجابي	(+) إيجابي	(AB)

توجد مستضدات ABO أيضاً على معظم خلايا الجسم الأخرى بما في ذلك الخلايا البيضاء والصفيحات. يمتلك الأفراد من الزمرة الدموية A مستضد A على كرياتهم الحمر، والأفراد من الزمرة الدموية B مستضد B، وأصحاب الزمرة AB لديهم كلا المستضدين A+B، أما أصحاب الزمرة O فلا يوجد على كرياتهم الحمر مستضد B أو A. الأفراد الذين يملكون زمرة A لديهم أضداد IgM ضد (B) راصات سوية (Isoagglutinins) في مصلهم، في حين أن الأفراد ذوي الزمرة B لديهم أضداد ضد A، وذوي الزمرة O لديهم أضداد ضد A وضد B.

لقد تم التعرف على ثلاثة ألائل *O.A.B* رئيسية على جين *ABO*، ومن ثم هناك ستة احتمالات للأنماط الجينية (Genotypes)، هي (AB،BO،BB،AO،AA،OO). الزمرة A والزمرة B تورثان كخلة تواؤمية (Codominant traits)، إذ تكون O متنحية لكليهما (جدول 12-4). وليس في الإمكان أثناء تعيين الزمر الدموية التفرقة بين *AA* من *AO* أو BB من *BO* وبالرغم من ذلك فيمكن معرفة ذلك من معلومات شجرة النسب أو بتحاليل الدنا.

تحدد ألائل مجموعة ABO فعالية إنزيم غلايكوزيل الترانسفراز Glycosyltransferase الذي يعدل من المستضد H (H-antigen) على سطح الخلية. يحتوي الأليل O على خبن في أساس فردانية تسبب إنزياح الإطار (Frameshift) مع إنتاج بروتين غير فعال. بالنسبة للأليل A فإنه يضيف عند النهاية N أستيل غالاكتوزامين. في حين يضيف الأليل B د- غالاكتوز للمستضد H. يختلف الأليل A عن الأليل B في كثير من مواضع النوكليوتيدات.

2.3.12. مجموعة الزمرة الدموية الريصية (Rhesus blood group system):

يوجد نمطان ظاهران رئيسيان للزمرة الريصية، إما ايجابية وإما سلبية، و يمكن تعيينهما بتفاعل الكريات الحمراء للفرد مع أضداد (Anti-D Rh). يملك الأشخاص ذوو العامل الريصي الإيجابي (Rh+ve) مستضد (RhD) على الخلايا الحمراء والأنسجة الأخرى. في حين لا يملك الأشخاص السلبيون (Rh-ve) هذا المستضد.

يحدَّد النمط الظاهري الريصي بوساطة ناتج جينين متماثلين مجاورين، واحد منهما يرمز لعديد الببتيدات الخاصة بـ Ee، Cc، في حين أن الجين الآخر يرمز للبروتين D. يفتقد الأشخاص سلبيو العامل الريصي (Rh-ve) الجين D، في حين أن الأشخاص إيجابيي العامل الريصي (Rh+ve) يكونون متغايري الألائل أو متماثلي الألائل لـ D. يختلف الأليل E عن الأليل e باستبدال الأساس C بالأساس G عند الموقع 676 من الجين (RHCE).

3.3.12. الداء الانحلالي للوليد (Hemolytic disease of the newborn):

هذا المرض عبارة عن فقر دم انحلالي مكتسب بسبب عبور الغلوبولينات المناعية من الأم عبر المشيمة. هناك سببان أساسيان: عدم توافق مجموعة زمر ABO، والآخر هو عدم توافق العامل الريصي (Rhesus Incompatibility). عدم توافق مجموعة زمر ABO بين الأم والجنين شائع نسبياً، ولكن حيث إن أضداد (Anti A, Anti B) في مجملها تكون تابعة للغلوبولينات المناعية IgM، لا تستطيع العبور عبر المشيمة،

فإن المرض السريري يميل إلى أن يكون خفيفاً. على العكس من ذلك فإن المرض الانحلالي العائد إلى عدم توافق العامل الريصي، رغم كونه أقل شيوعاً، يكون عادة شديداً، إذ أن أضداد (Anti D) تتبع الغلوبولينات المناعية IgG التي يمكنها العبور بحرية عبر المشيمة.

تمر كمية قليلة من دم الجنين إلى جهاز الدوران في الأم بشكل طبيعي أثناء الحمل. فإذا كانت زمرتا الأم والجنين سلبية أو إيجابية للعامل الريصي، فلن يكون لذلك أهمية. في حين لو كانت الأم سلبية العامل الريصي، وكان الجنين إيجابي العامل الريصي، فإن الخلايا الحمراء التي تصل إلى دم الأم ربما نبهت الجهاز المناعي لتكوين أضداد (Anti–D) في دوران الأم. في هذه الحالة يقال عن المرأة التي كونت هذه الأضداد: إنَّها حُسِّسَت (Sensitized). إن دخول كمية قليلة من دم الجنين إلى دم الأم كافٍ لأن يحدث هذا التحسس أثناء الحمل، ولكن في الحقيقة يتم عبور الدم بشكل أكثر أهمية أثناء عملية الولادة، وهذا هو الوقت الذي يحدث فيه التحسس بشكل أكثر شيوعاً. يكون التحسس أكثر احتمالاً إذا وُجد توافق لمجموعة زمر ABO بين الأم والجنين، إذ يتيح ذلك أن تبقى الكريات الحمراء للجنين في دوران الأم ومن ثم تزيد من وقت التنبيه المناعي. يمكن للمرأة سلبية العامل الريصي (Rh–ve) أن تتحسس إذا نقل إليها دم من زمرة إيجابية للعامل الريصي، أو أحياناً بعد الإجهاض (تلقائي أو علاجي) وأحياناً بعد بزل السلى (Amniocentesis)، أو أخذ عينة من الزغابات المشيمائية.

لو حدث أن حملت المرأة المحسسة للعامل الريصي بجنين يكون إيجابي العامل الريصي، ستعبر الأضداد (Anti Rh) عبر المشيمة، وتتحد مع الكريات الحمراء إيجابية (Rh+ve) للجنين، وهذا يسبب قصر بقيا هذه الخلايا، مع زيادة الحاجة إلى إنتاج الكريات الحمراء. نتيجة لذلك يحدث فرط تنسج لنقي العظام وضخامة كبدية طحالية. يؤدي فقر الدم الشديد إلى فشل قلبي مع حدوث وذمات معممة (موه الجنين : Hydrops fetalis)، وقد يؤدي ذلك إلى موت الجنين بالرغم من نقل الدم الذي يمكن أن يطبق داخل الرحم. وفرة إنتاج البليروبين غير المرتبط المتكون نتيجة انحلال الكريات الحمراء أثناء وجود الجنين داخل الرحم، يطرح عن طريق المشيمة. ولكن بعد الولادة يزداد البليروبين غير المرتبط في مصل الوليد بسرعة، ويمكن أن يسبب أذية دماغية (يرقان نووي Kernicterus)، إلا إذا عولج عن طريق نقل الدم التبديلي (Exchange transfusion).

الوقاية:

في الشعوب القوقازية كان الداء الانحلالي الولادي يصيب 1% من جميع الولادات. وبشكل نموذجي لا يصاب الطفل الأول، إذ إن الحمل الأول يحدث التحسس فقط، ولكن تزداد شدة المرض مع الولادات اللاحقة حتى يأتي الوقت الذي لا يمكن تجنب موت الجنين داخل الرحم.

في سنة 1970، قدمت وسيلة للوقاية من المرض، وذلك عن طريق إعطاء الغلوبيولين المناعيAnti– Rh (Anti– Rh D immunoglobulin)، عن طريق الحقن العضلي في مدى 72 ساعة فقط من ولادة طفل إيجابي للعامل الريصي (Rh+ve)، وتكون الأم سلبية (Rh–ve). حقن هذه الغلوبولينات المناعية ستساعد على التخلص من الكريات الحمراء الإيجابية التي عبرت إلى الأم، قبل إمكانية إحداثها التحسس في الأم. يمكن أيضاً إعطاء أضداد (Anti–Rh) للسيدة سلبية العامل الريصي (Rh–ve) بعد الإجهاض أو بزل السلى أو أخذ عينات من الزغابات المشيمائية.

مع استعمال هذه التقنية تناقص وقوع (Incidence) المرض الانحلالي الوليدي 0.54 لكل ألف. ولكن ما زالت بعض النساء يتحسسن بسبب عبور كميات قليلة من الدم أثناء الحمل، ونادراً ما تتحسس بعض السيدات لمكونات ريصية أخرى مثل (E) أو (C). بجانب ذلك، فإن بعض السيدات اللاتي لديهن خطورة لا يأخذن، لسوء الحظ، المصل المضاد Anti–Rh بعد الولادة مباشرة. وأخيراً بعضهن ينقل لهن دم غير مناسب (إيجابي العامل الريصي) (Rh+ve).

4.12. زرع الأنسجة Tissue Transplantation

قد ينقل نسيج فرد ما (المعطى Donor)، إلى فرد آخر (الآخذ Recipient). يعرف هذا الفعل بعملية الزرع، ويقسم الزرع حسب علاقة المعطي بالآخذ (**الجدول 12–4**).

(الجدول 12–4) : أنماط غرس الأنسجة.

النمط	علاقة الآخذ بالمعطي
طعم ذاتي (Autograft)	الشخص نفسه (الذات)
طعم إسوي (Isograft)	توأم متشابه (Identical twins)
طعم مثلي (Allograft)	نفس الفصيلة (النوع) (Same species)
زرع غيري (Xenograft)	بين أنواع مختلفة (Different species)

يعتبر زرع الأنسجة الذاتية أو الأسوية من المعطي، مشابهاً لنسج الآخذ من الناحية الوراثية، ومن ثم فإن الرفض (Rejection) عن طريق المناعة المتواسطة بالخلايا (Cell–mediated) لا يمثل أي إشكالية. وعلى عكس ذلك فإن غرس الأنسجة بين الأنواع المختلفة، (الزرع الغيري Xenograft)، يحدث رفضاً لها دائماً. وأخيراً فإن الزرع بين أفراد مختلفين ولكن من نفس النوع، سيحدث رفضاً لها في العادة، إلا إذا أجريت فحوص التوافق النسيجي، وطبق العلاج المثبط للمناعة.

ومن أهم العناصر التي نهتم بها في حال زرع الانسجة والتي تؤدي إلى قبول أو رفض الطعوم هي مركبات التوافق النسيجي.

1.4.12. مركب التوافق النسيجي الرئيسي Major Histocompatibility Complex (MHC):

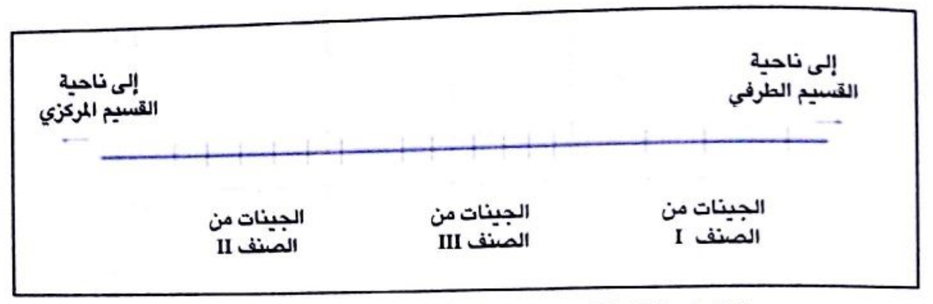
مركب التوافق النسيجي الرئيسي عبارة عن تجمع كثيف من الجينات على الذراع القصير للصبغي 6، الذي يحتوي نحو 80 جيناً في شريط من الدنا طوله Mb4 (الشكل 12–5).

تقسم هذه الجينات إلى ثلاثة أصناف (Classes). يحتوي الصنف III من الجينات على مكونات عديدة من مجموعة المتممة، مثلاً (*C2*، *C4A*، *C4B*، *Bf*)، والجين (*Cyp21B*). يعتبر الصنفان I،II مسؤولين عن تقديم المستضد المجهز (Processed) إلى الخلايا التائية، وعلى هذا الأساس فهما يؤديان دوراً حيوياً في تنظيم الاستجابة المناعية.

بشكل عام، يقوم الصنف I من الجينات بتقديم المستضدات إلى الخلايا التائية +CD8، التي تكون مسؤولة في المقام الأول عن الانسمام الخلوي المتوسط بالخلايا (Cell–mediated cytotoxicity) للخلايا المعداة بالفيروسات. أما الصنف II من الجينات فتقدم المستضدات إلى الخلايا التائية $CD4^+$، التي تساعد الخلايا البائية لإنتاج الغلوبولينات المناعية المناسبة. يتوزع الصنف I من مركب التوافق النسيجي على سطح جميع الخلايا المنواة (عدا بعض خلايا الأرومة المغذية Trophoblast والنطاف والصفيحات الدموية). يتوزع الصنف II من مركب التوافق النسيجي على سطح الخلايا اللمفاوية بيتا، والخلايا المقدمة للمستضدات (Antigen–presenting cells) مثل الخلايا المتغصنة Dendritic Cells والبلاعم الكبيرة (Macrophages). معظم الجينات من الصنف I والصنف II تمتلك كثير من الألائل، التي يمكن التعرف عليها بمجموعة من الاختبارات المناعية وتحاليل الدنا.

يمكن أن تحدث أي مشاركة لهذه الألائل، وبالنظر إلى عدد الألائل التي يمكن أن تأخذ دوراً في تلك المشاركة، فمن غير المتوقع أن الأفراد غير الأقرباء، يمكن أن يكون لديهم نفس الطراز منها. تكون هذه الجينات قريبة بعضها من بعض فيزيائيا، ومن ثم فالألائل على كل صبغي تميل أن تورث بعضها مع بعض

بشكل نمط فرداني (Haplotype). ضمن العائلة يمكن تمييز الأنماط الفردانية لكل والد، وفي المتوسط 1 لكل 4 من أبنائهم سيكون لديه أنماط جينية من مركب التوافق النسيجي الرئيسي (MHC) المماثل، وهذا الشيء له أهمية تطبيقية في عملية زرع الأنسجة.



(الشكل 12-5): مركب التوافق النسيجي الرئيسي MHC.

2.4.12. نقل الدم (Blood transfusion):

يعتبر نقل الدم أكثر الأنماط شيوعاً من حيث زرع الأنسجة. لا بد من تعيين زمر ABO وكذلك العامل الريصي (RH) لكل من المعطي والآخذ، كما يتم التقصي (Screen) للأضداد اللانمطية، يخلط خلايا المعطي أيضاً مع مصل الآخذ في الزجاج (عملية التصالب Cross-matching).

+ : حدوث تراص

- : لا يحدث تراص

في العادة يعطى الدم من نفس الزمرة (ABO) كلما كان ذلك ممكناً، ولكن في الحالات الإسعافية، يمكن إعطاء زمرة أخرى كما هو مبين في (**الجدول 12-5**). يؤدي وجود أضداد (ABO) في بلازما الآخذ إلى تراص خلايا المعطي، إذا كان عليها المستضدات الموافقة لها، ولكن وجود الأضداد في بلازما المعطي ليس لها أهمية، إذ سيتم تخفيفها بسرعة في دوران الآخذ.

(الجدول 12-5): احتمال حدوث تفاعلات غير مرغوب فيها حين نقل دم غير مشابه.

زمرة دم الآخذ	زمرة الدم المعطي			
	O	A	B	AB
O	-	+	+	+
A	-	-	+	+
B	-	+	-	+
AB	-	-	-	-

3.4.12. زرع الأنسجة:

يمكن الآن زرع أنواع مختلفة من الأنسجة، ويعتبر الاختبار النسيجي للمعطي أمراً حرجاً جداً. إذ يتعين أن يكون المعطي والآخذ من نفس الزمرة المستضدية للأنسجة إلى أقصى حد ممكن، ويمثل الأقارب أحسن فرصة لاحتمال توافق الزمر (ABO) وكذلك مركب التوافق النسيجي (MHC) ويمكن اختبار التوافق النسيجي مباشرة، بوساطة خلط الخلايا اللمفاوية ذات الكفاية المناعية (Immune-competent lymphocytes) من كل من المعطي والآخذ (اختبار زرع خليط اللمفاويات Mixed lymphocyte culture test). فإذا كان التوافق جيداً لا يحدث رفض للنسيج المزروع، أما اذا كان التوافق ضعيفا فسيحدث الرفض حتى رغم إعطاء مثبطات المناعة.

يعدّ الجنين من الناحية المستضدية مختلفاً عن أمه (طعم إسوي Allograft). ورغم ذلك لا يحدث رفض للجنين. إن غياب مركب التوافق النسيجي من الطبقة الخارجية لخلايا المشيمة ربما يؤدي دوراً في ذلك، وكذلك ربما وجود خلايا الجنين البيضاء في دوران الأم.

الفصل الثالث عشر

علم الوراثة الدوائي

PHARMACOGENETICS

Contents المحتويات

1.13. مقدّمة

جذب أحد العلوم الطبية حديثاً الكثير من الاهتمام لترجمة المعرفة في علم الوراثة في علاج المرضى، وهوعلم الوراثة الدوائي Pharmacogenetics أو Pharmacogenomics، الذي يُعنى بدراسة الاختلافات الكثيرة في استجابة المرضى للأدوية بسبب التنوعات الأللية في جيناتها وتتاليات الدنا الأخرى المؤثرة في استقلاب وفعالية وسمية الدواء، ويمكن تعريف علم الوراثة الدوائي باختصار أنه العلم الذي يربط بين تتاليات الجينات وبين الأدوية التي يتناولها المرضى.

في الواقع، تفشل المعالجات في ملايين المرضى حول العالم مما يؤدي إلى مئات الآلاف من حالات الوفاة سنوياً، وأشار كثير من الدراسات إلى أن معدّل التباين في الاستجابة إلى بعض الأدوية لدى المرضى وصل مستويات عالية جداً يبينها (**الجدول 13-1**).

(الجدول 13-1): النسب المئوية لتباين الاستجابة لزمر دوائية مختلفة

الزمرة الدوائية	نسبة التباين	الزمرة الدوائية	نسبة التباين
المسكّنات Analgesics	80%	الأدوية الكيميائية للسرطان Cancer Chemotherapy	25%
أدوية الزهايمر Alzheimer	30%	أدوية الاكتئاب Depression	60%
السلس البولي Incontinence	40%	أدوية الإيدز AIDS	47%
أدوية التهاب المفاصل الروماتوئيدي Rheumatoid Arthritis	50%	أدوية اضطرابات نظم القلب Cardiac Arrythmias	60%
أدوية الشقيقة Migraine	50%	أدوية الشيزوفرينيا Schizophrenia	60%
أدوية الداء السكري Diabetes	57%	أدوية الربوAsthma	60%

في المقابل، يمكن لتطوير مرتسم جيني Genetic Profile، الذي يمكّننا من توقع فعالية الدواء وسميته والتأثيرات الضائرة له (أو الضارة) Adverse Effects، أن يفيد مباشرة في إرشاد الأطباء لاختيار الدواء الذي يستفيد منه المريض بصورة مثلى دون اختطار الحوادث الضائرة، أو لتحديد الجرعة التي تضمن المعالجة الملائمة مع التقليل من الاختلاطات الناتجة عنها. وحديثاً، أدركت كثير من الهيئات العالمية المسؤولة عن الدواء، ومن أهمها منظمة الغذاء والدواء الأمريكية Food and Drug Administration أو FDA، أهمية التغايرات الوراثية الدوائية Pharmacogenetic Variations لدى الأفراد المستجيبين للمعالجة الدوائية عبر تضمين المعلومات الوراثية الجينية على لصاقات الكثير من الأدوية تجاوز عددها الـ 50 دواءً. مع التأكيد أن كثير من المناقشات لا تزال قائمةً حول الجدوى الاقتصادية من الفحوص

الوراثية التي غالباً ما تكون مكلفة قبل البدء بالمعالجة تمهيداً لكي تصبح هذه الفحوص جزءاً من الفحوص الروتينية.

ولذلك كله، بزغ في العقدين الماضيين ما أطلق عليه بالطب الفرداني (الشخصاني) Personalized Medicine الذي يمكن تعريفه باختصار أنه الطب الذي يهدف إلى إعطاء الدواء المناسب بالجرعة المناسبة للمريض المناسب في الوقت المناسب، ويعتمد بشكل مباشر على التكوين الجيني للمريض Genetic Make Up، إذ غالباً ما يؤدي التباين في الاستجابة للأدوية بين أفراد المرضى إلى كون الكثير من الأدوية الموصوفة ليست آمنة وفعالة لدى جميعهم، وأن السبب الأساسي لذلك هو التباين في التكوين الجيني لديهم.

وسندرس في هذا الفصل بعض الأمثلة المهمة على تلك التغايرات في الاستجابة للأدوية التي تعكس التغايرات الجينية، وذلك بعد أن نشير باختصار إلى الآليات التي تكتنف الاختلافات وثيقة الصلة في التكوين الجيني للمرضى.

2.13. آليات تأثير العوامل الوراثية على الاستجابة للأدوية

Mechanisms of Genetic Factor Effects on Drug Responses

تشمل الآليات التي تغيّر من استجابة أي مريض للعلاج ثلاثة عوامل هي: استقلاب الدواء Drug Metabolism ونقل الدواء Drug Transport وشكل مستقبل الدواء Drug Receptor، حيث تتأثر الفعالية العلاجية للدواء بالإنزيم المُستقلِب Metabolizing Enzyme أو البروتين الناقل Transport Protein أو البروتين المستقبل، التي يمكن أن تختلف أشكال وتراكيز وفعالية أيٍّ منها في الحالات التالية:

- وجود تعدد شكلي مفرد Single Nucleotide Polymorphism أوSNP في تسلسل الجين التي ترمّز هذه البروتينات، أو في تسلسلات الدنا التي تشارك في ضبط الفعالية الانتساخية لجينات هذه البروتينات، كالمحضّضات Promoters والمعززات Enhancers. ويعرّف الـ SNP أنه اختلاف في أساس نوكليوتيدي واحد في تسلسل للدنا، لكن يختلف عن الطفرة النقطية Point Mutation أن الـ SNP يكون منتشراً في أكثر من 1% من أفراد المجتمع بينما يكون معدل انتشار الطفرة النقطية عادةً أقل من ذلك بكثير، إضافةً إلى أن الـ SNP لا يؤدي بحد نفسه إلى حدوث مرض، بل ربما إلى تغاير في استجابة المرضى للمعالجة، بينما غالباً ما تترافق الطفرات النقطية مع حالات مَرَضيّة.
- حوادث الإقحام والخبن Insertions-Deletions أو ما يُعرف بـ InDels التي تؤدي إلى إضافة أو حذف أكثر من أساس نوكليوتيدي، وقد يصل إلى المئات والآلاف من النوكليوتيدات، ضمن الجين أو التسلسلات المشاركة في ضبط انتساخها.

- حذف كامل الجين. فإذا كانت الجين المحذوفة مسؤولة عن التعبير عن أحد الإنزيمات المُستقلِبَة للدواء أو عن مستقبل الدواء نفسه، عندئذٍ يؤدي ذلك إلى تغيرات جوهرية في تأثير الدواء. ففي حالة غياب الإنزيم المستقلِب للدواء تتزايد تراكيز الدواء بشكل كبير ويطول نصف عمره Half Life مما قد يؤدي إلى تأثيرات سميّة كبيرة للدواء. أما في حال حذف جين مستقبل الدواء فيؤدي ذلك إلى إلغاء فعالية الدواء. والأخطر من ذلك، هو تراكم الدواء وحدوث ارتباطات غير نوعية للدواء بمستقبلات أخرى ومن ثم حدوث تأثيرات ضارة قد تكون سميّةً.
- تضاعف الجين Gene Duplication. وهي حالة معاكسة لحذف كامل الجين. وتؤدي في حالة كون الجين ترمّز أحد الإنزيمات المستقلِبة للدواء إلى انخفاض تراكيز الدواء ومن ثم انخفاض فعاليته العلاجية. أما في حالة تضاعف الجين المسؤولة عن مستقبل الدواء فيؤدي ذلك إلى زيادة فعالية الدواء التي قد تؤدي غلى تأثيرات سميّة أيضاً.

ولا بدّ أخيراً من الاهتمام بالحالة الخاصة التي يكون فيها الدواء المقدَّم للمريض هوطليعة دواء Prodrug. وتمثّل هذه الحالة أدوية عديدة تعطى للمرضى بحالة غير فعالة، وتحتاج إلى إنزيمات مستقلِبة لتحويلها إلى شكلها الفعال، وتيسّر ارتباطها بمستقبلاتها. حينئذٍ، تؤدي التعديلات الجينية السابقة، من SNPs وInDels وخبن وإقحام، إلى تغيّرات مهمة في فعالية الدواء وتأثيراته الضائرة عندما ترمّز الجين المتأثرة بإحدى هذه التعديلات أحد الإنزيمات المسؤولة عن استقلاب الدواء وتحويله من طليعة دواء إلى دواء فعّال.

3.13. أمثلة على الوراثة الدوائية Examples of Pharmacogenetics

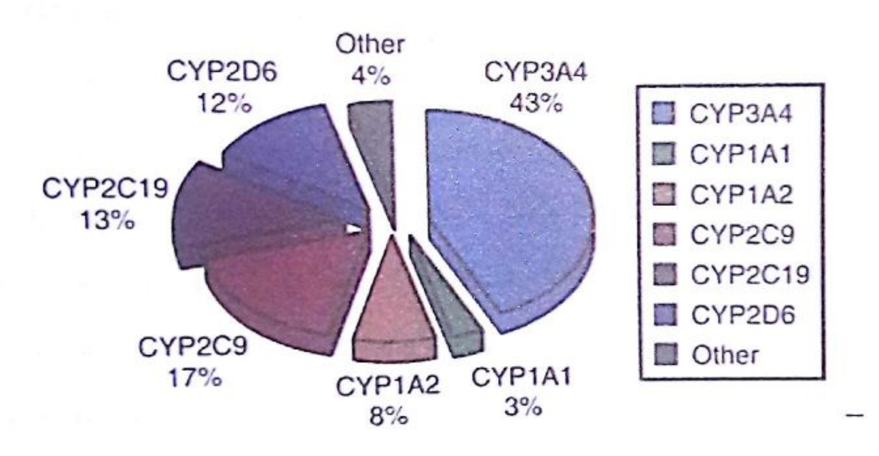
هنالك سبيلان لتأثير التغايرات الجينية على المعالجة الدوائية. الأول والتأثير في الحركيات الدوائية Pharmacokinetics أو PK، وتتعلق بامتصاص Absorption وتوزع Distribution واستقلاب Metabolism وإطراح Excretion الدواء أو ما تتم الإشارة إليه بالاختصار ADME وهي الأحرف الأولى للعمليات الأربع. والطريق الثاني هوالتأثير على الديناميكية الدوائية Pharmacodynamics أو PD، التي ترتبط بالاختلافات في الفعالية الدوائية وغالباً ما تُعنى بتبدلات إلفة ارتباط الدواء بمستقبله. وهكذا، يشمل تأثير التغايرات الجينية على المعالجة كلاً من تأثير الجسم في الدواء (PK) وتأثير الدواء في الجسم (PD).

1.3.13. تأثير العوامل الوراثية في الحركيات الدوائية Effects on Pharmacokinetics

سنذكر هنا عدداً من الأمثلة عن التأثيرات المتعلقة بالحركيات الدوائية، وتحديداً تلك الخاصة بالتأثير في استقلاب ونقل الأدوية.

1.1.3.13. التأثير في استقلاب الأدوية Drug Metabolism

تتألّف بروتينات السيتوكروم P-450 المستقلِبة للأدوية من 56 إنزيماً فعّالاً مختلفاً، ترمّز كلٌّ منها جين *Cytochrome P* أو *CYP* مختلفة، ويمكن تصنيفها إلى 20 عائلة تبعاً للتشابه في البنية الأولية للبروتينات. يحتوي ثلاثٌ من هذه العائلات، وهي *CYP1* و*CYP2* و*CYP3* الإنزيمات الأكثر انخراطاً في استقلاب ركائزها، حيث تشارك في استقلاب طيف واسع من المواد الآتية من خارج الجسم، التي يُطلق عليها مصطلح المواد الغريبة Xenobiotics، بما في ذلك الأدوية. تكون ست جينات من السيتوكروم P-450 مهمة تحديداً، هي *CYP1A1*، و*CYP1A2*، و*CYP2C9*، و*CYP2C19*، و*CYP2D6*، و*CYP3A4*، بسبب كون الإنزيمات التي ترمّزها مسؤولةً عما يزيد على استقلاب 90% من جميع الأدوية المستعملة في علاج الأمراض (**الشكل 13-1**).

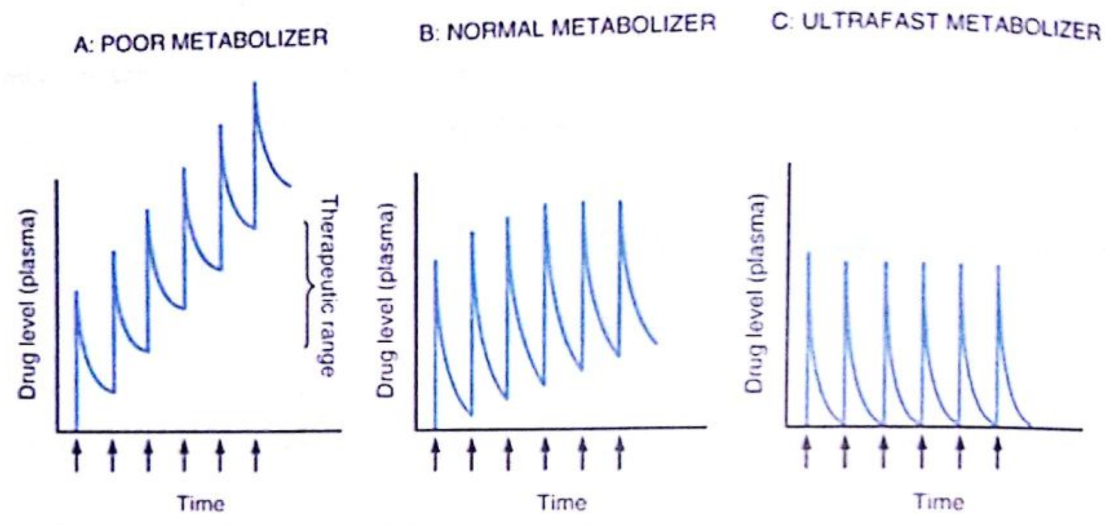


(الشكل 13-1) النسب المئوية لإسهام ست جينات CYP في استقلاب الأدوية العلاجية.

وبالنسبة إلى الكثير من الأدوية، يبدأ عمل إنزيمات السيتوكروم P-450 بإزالة السمية عبر تفاعلات تجعل الدواء أقل فعالية وأسهل إطراحاً. مع ذلك، تكون بعض الأدوية غير فعالة بنفسها بل على شكل طلائع أدوية Prodrugs تتحول إلى مُستقلَبات فعّالة دوائياً من خلال عمل السيتوكروم P450. ومن المهم جداً أن للكثير من جينات السيتوكروم تعدّدات شكلية، مع وجود أليلات تغيب معها الفعالية الإنزيمية، أو تنقص، أو تزداد، وبذلك تؤثر في السرعة التي تُستقلَب فيها الأدوية وتؤثّر بشكل كبير في النحوالذي يستجيب به المرضى لمعالجة الدوائية.

وعلى سبيل المثال، يمتلك إنزيم *CYP2D6*، وهوالمسؤول عن استقلاب 70 دواءً مختلفاً، عشرات الأليلات التي تمتلك منتجاتها فعاليات استقلابية طبيعية، أو ضعيفة، أو سريعة جداً. تُنقص الطفرات المغلّطة Missense Mutations من فعالية هذا السيتوكروم، بينما تنتُج أليلات لا تظهر أي فعالية عن طفرات في عملية التضفير Splicing أو طفرات إنزياح إطار الترجمة Frameshift Mutations (أنظر الفصل العاشر). على العكس من ذلك، يكون الأليل *CYP2D6*1XN* عبارة عن سلسلة من

الأليلات مختلفة العدد تكون فيها جين CYP2D موجودة بثلاث أو أربع نسخ أوأكثر على أحد الصبغيات. وبشكل متوقع، ينتج عن ذلك فعالية عالية من لهذا الإنزيم. وينتج عن توليفات Combinations من تلك الأليلات ثلاثة أنماط ظاهرية Phenotypes للاستقلاب هي: النمط الطبيعي أوالسريع Normal or Extensive، النمط البطيء Poor، والنمط السريع جداً Ultrafast **(الشكل 13-2)**.



(الشكل 13-2) مستوى تراكيز الدواء لدى المرضى ذوي الاستقلاب **(A) الضعيف، (B) الطبيعي، و(C) السريع جداً. ويبيّن الشكل تراكم** مستويات الدواء لدى إعطاء **الجرعات المتعاقبة التي تمثّلها الأسهم بالنسبة لما يدعى المجال العلاجي الموضّح** بالمستطيل الأزرق، الذي يرمز **للمجال التي يُظهر فيه الدواء فعاليته العلاجية، حيث تكون تراكيز الدواء الأقل من المجال العلاجي Therapeutic Range غير فعالة وتراكيز الدواء الأعلى من المجال سميّة. عند ضعيفي الاستقلاب (A)** تتراكم مستويات الدواء **لتتجاوز بعد عدد من الجرعات المجال العلاجي وتظهر السمية، أما لدى طبيعيي الاستقلاب (B)** تكون مستويات الدواء **بعد جميع الجرعات ضمن المجال العلاجي نفسه، وأخيراً لدى سريعي الاستقلاب (C) تكون تراكيز الدواء** في أغلب الوقت **أقل من المجال العلاجي ومن ثم لا تظهر الفعالية العلاجية المرغوبة لديهم.**

واعتماداً على ما إذا كان الدواء نفسه فعالاً أوكان طليعة دواء يتطلب تفعيلاً بالسيتوكروم، يمكن أن يؤدي النمط البطيء للاستقلاب إلى تراكم مستويات سمية للدواء أو يفشل بالحفاظ على الفعالية الدوائية بسبب ضعف التفعيل لطليعة الدواء. في المقابل، يكون الأفراد ذوو الاستقلاب السريع جداً أمام اختطار ألا يحصلوا على معالجة فعالة بالجرعات الاعتيادية من الأدوية التي لا ينتج عنها مستويات من الدواء تكون ضمن مجال الفعالية الدوائية، أو يكونون عرضةً لتلقي جرعة عالية نتيجة تحوّل سريع جداً لطليعة الدواء إلى مستقلَبِه الفعال. على سبيل المثال، يمتلك الكودئين Codeine فعالية مخدّرة narcotic ضعيفة نتيجة تحوله البطيء للمورفين Morphine الذي يمتلك فعالية مخدّرة أعلى بـ 10 مرات من الكودئين، ويتواسط التحول من الكودئين إلى المورفين إنزيم CYP2D6. يشيع الأفراد ذوو الاستقلاب البطيء في بعض المجتمعات، حيث يمتلكون أليلات تغيب عنها فعالية CYP2D6 لتحويل فاعل

للكودئين إلى مورفين مما يسبب ضعف الاستجابة لديهم للكودئين. في المقابل، يمكن أن تحدث السمية لدى ذوي الاستقلاب السريع جداً حتى بجرعات صغيرة من الكودئين. في الواقع، فقد توفي فعلاً عدد من المرضى الأطفال إثر تلقيهم جرعات عالية نسبياً من الكودئين نتيجة كونهم من ذوي الاستقلاب السريع جداً.

وكما هو الحال بالنسبة للكثير من أشكال التغايرات الجينية، يختلف تواتر عدد من أليلات السيتوكروم P450 بين جمهرات مختلفة (**الجدول 13-2**). على سبيل المثال، يوجد أليل للسيتوكروم *CYP2D6* مسؤول عن ضعف الاستقلاب في واحد من كل 14 فرداً من العرق الأبيض بينما يكون نادراً في آسيا ويكاد يغيب كلياً لدى سكان أمريكا الأصليين (الهنود الحمر) وسكان جزر المحيط الهادي. وبشكل مشابه، تظهر أليلات ضعيفة الاستقلاب لجين *CYP2C19* تغايرات كبيرة متعلقة بالإثنية Ethnicity، مع كون واحد من كل 33 فرداً من العرق الأبيض، وواحد من كل 6 آسيويين ضعيفي الاستقلاب. تكون هذه الاختلافات العرقية في تواتر الأفراد ضعيفي وسريعي الاستقلاب كبيرة الأهمية لتقديم الجرعات الفردانية Personalized Doses في الجمهرات المتغايرة عرقياً، أي مثل مجتمع الولايات المتحدة الأمريكية إذ تعيش كثير من المجموعات العرقية جنباً إلى جنب.

(الجدول 13-2): النسبة المئوية (%) لضعيفي الاستقلاب ضمن الجمهرات السكانية المختلفة

الأصل العرقي للجمهرة	CYP2D6	CYP2C19
القارة الأفريقية جنوب الصحراء الكبرى Sub-Saharan Africa	3.4	4
الأمريكيون الأصليون Native American (الهنود الحمر)	0	2
العرق الآسيوي Asian	0.5	15.7
العرق الأبيض	7.2	2.9
الشرق الأوسط وشمال أفريقيا	1.5	2
جزر المحيط الهادي	0	13.6

2.1.3.13. التأثير في نقل الأدوية Drug Transport

تدخل الجزيئات الصغيرة إلى الخلية، ومنها كثير من الأدوية، في معظم الحالات بالانتشار البسيط عابرةً الغشاء الخلوي. مع ذلك، يمكن أن تتم إعادة هذه الجزيئات، التي أصبحت الآن في هيولى الخلية، وضخّها إلى خارج الخلية عبر ناقلات فعّالة Active Transporters كبروتينات P-Glycoproteins أوPGPs، وهي مضخات ترمّزها جينات تدعى بجينات المقاومة المتعددة Multiple Drug Resistance أوMDRs بسبب فعالية هذه المضخّات في طرد الأدوية خارج الخلايا والتسبب عبر ذلك بمقاومة الخلايا للعديد من الأدوية، وبخاصّة، الأدوية الكيميائية المعالجة لمرضى السرطان، مع ملاحظة ارتفاع الفعالية الانتساخية لهذه الجينات المقاومة في خلايا السرطان.

من ناحيةٍ أخرى، يمكن لبروتينات PGPs في الأمعاء الدقيقة أن تسبب انخفاضاً في امتصاص الأدوية عبر الخلايا الظهارية المغلّفة للأمعاء، إذ تقوم بضخ الأدوية مرة أخرى إلى لمعة الأمعاء وطرحها بعد دخول تلك الأدوية إلى الخلايا. وكمثال على دور التغايرات الجينية في نقل الأدوية، لوحظ وجود SNP هو(C3435T) في بروتين MDR1 لدى بعض المرضى الذين يتلقون المعالجة بالديجوكسين Digoxin لتقوية وظيفة العضلة القلبية لديهم. وقد ترافق هذا التعدد الشكلي لدى المرضى متماثلي الزيغوت Homozygotes للأليل الحاوي على الثيمين في الموقع 3435 مع مستويات عالية من الديجوكسن في مصل المرضى مما دلّ على نقص فعالية البروتين MDR1 في طرد الديجوكسين وإعادته إلى لمعة الأمعاء ومنع امتصاصه إلى الدم. وبما أن الديجوكسين من الأدوية التي لها مجال علاجي ضيّق Therapeutic Range، يمتدّ من تراكيز الدواء التي تبدأ عندها الفعالية العلاجية للدواء بالظهور إلى تراكيز الدواء التي تكون سميّةً، فإن ارتفاعاً بسيطاً في مستوياته المصلية يمكن أن يؤدي إلى سمية للعضلة القلبية قد تكون قاتلة.

2.3.13. تأثير العوامل الوراثية في الديناميكيات الدوائية Effects on Pharmacodynamics

1.2.3.13. فرط الحرارة الخبيث Malignant Hyperthermia

إن فرط الحرارة الخبيث هوحالة نادرة لها وراثة جسدية سائدة تحدث فيها استجابة ضائرة عنيفة لإعطاء كثير من المخدرات الاستنشاقية الشائعة في العمليات الجراحية، مثل الهالوتان Halothane، أوالمرخيات العضلية، مثل السوكسينيل كولين Succinylcholine. وسريعاً جداً بعد إعطاء المخدر، تتطور لدى المريض حمّى مهدّدة للحياة، وتقلص عضلي مستمر. تكون الآلية الفيزيولوجية لهذا الاضطراب الشديد في ارتفاع مستويات أيونات الكالسيوم في الشبكة العضلية الداخلية Sarcoplasm لخلايا العضلات، مما يؤدي إلى صلابة في العضلات وارتفاع درجة الحرارة وانحلال سريع للعضلات

Rhabdomyolysis. وتعدّ هذه الحالة سبباً شائعاً للموت خلال التخدير، مع معدّل وقوع يبلغ 1 لكل 50 ألف مريض بالغ تحت التخدير بينما يكون معدل وقوعه لدى الأطفال أعلى بـ 10 أضعاف.

يترافق فرط الحرارة الخبيث في 50% من الحالات مع تعددات شكلية معيّنة في جين تدعى RYR1، التي ترمّز قناة أيونية للكالسيوم داخل خلوية. وهكذا، فإن من الضروري اختبار وجود هذه التعددات الشكلية لتجنّب هذه الحالة وأخذ جميع الاحتياطات اللازمة خلال العمليات الجراحية للمرضى إيجابيي تلك التعددات الشكلية. ومن تلك الاحتياطات استخدام الأغطية الباردة والأدوية المضادة لاضطرابات نظم القلب، كما يمكن التفكير بالتخدير الموضعي أو بإعطاء مخدّرات أخرى ذات عواقب أقل شدة على المريض.

2.2.3.13. قصور القلب الاحتقاني Congestive Heart Failure

في هذه الحالة تضعف القوة التقلصية لعضلة القلب مما يستوجب المعالجة بزمر دوائية منها ما يدعى بحاجبات المستقبلات بيتا Beta-Receptor Blockers، وتقع هذه المستقبلات في أغشية الخلايا القلبية. وفي سبيل اكتشاف أدوية جديدة من هذه الزمرة، طوّرت إحدى الشركات دواءً جديداً أسمته بوسيندولول Bucindolol وهو حاصر لمستقبلات بيتا 1 الأدرنرجية Beta-1 Adrenergic Receptor في خلايا العضلة القلبية. وأبدت نتائج الدراسات في حيوانات التجربة فعالية عالية لهذا الدواء مما شجع على البدء بالدراسة على مرضى قصور القلب. إلا أن النتائج في المرضى أتت مخيّبة للآمال إذ لم يبد هذا الدواء الفعالية المأمولة في تحسين نتاج القلب من الدم الذي يعكس تحسن قوة عضلة القلب، واقتصر التحسّن على جزء فقط من المرضى.

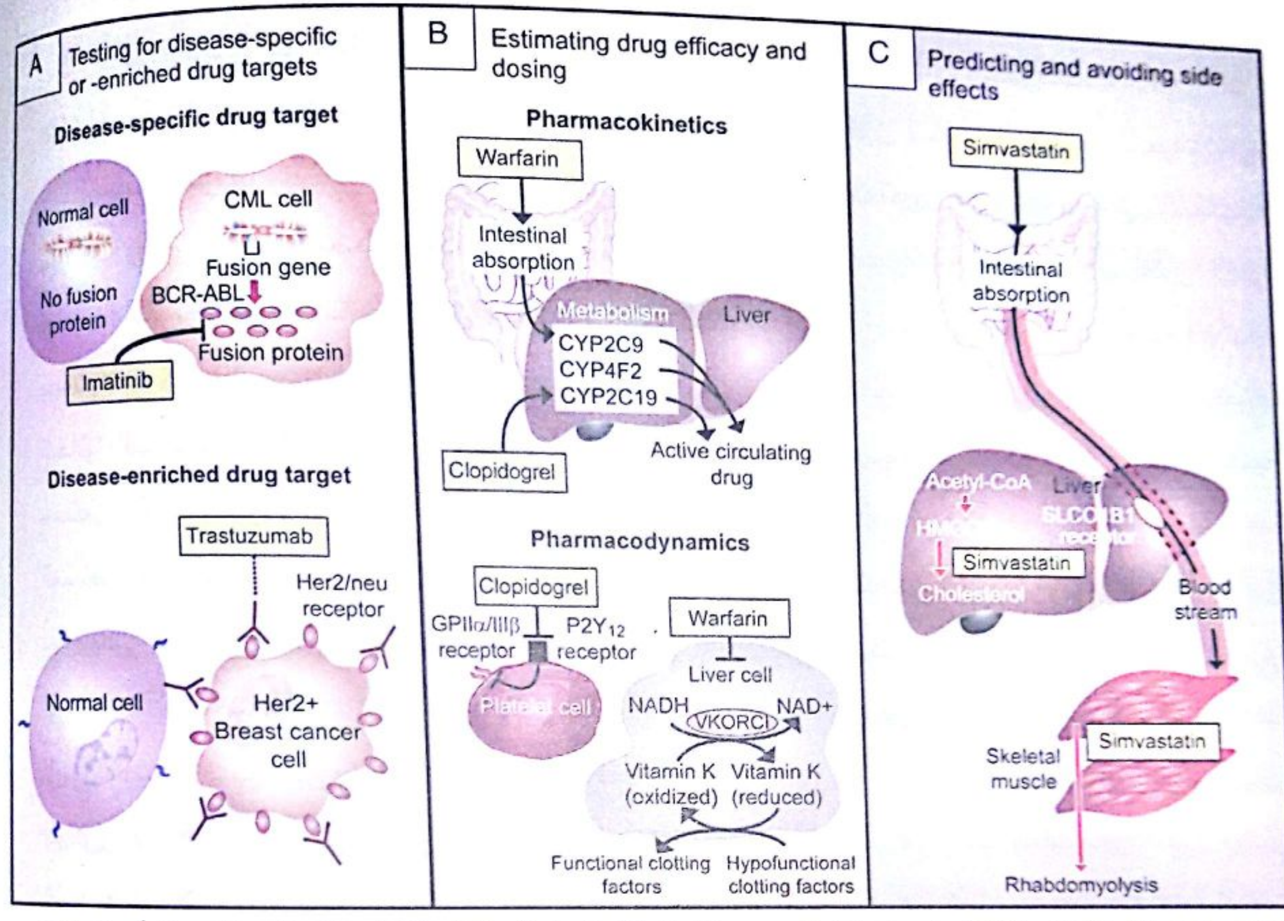
أجريت لاحقاً دراسة معمّقة للمرضى إذ اكتشف أن أليل مستقبل بيتا 1 يكون بشكلين اثنين؛ يرمّز الأول الحمض الأميني الآرجنين Arg في الموقع 389 من البنية الأولية للبروتين، بينما يرمّز الثاني الحمض الأميني الغليسين Gly في نفس الموقع. ووُجد أن 50% من جمهرة الأفراد التي أدرجت في الدراسة كانت متماثلة الزيغوت لأليل Arg بينما كان 20% منها متماثل الزيغوت لأليل Gly، والباقي كانت متخالفة الزيغوت. وحينئذ أجريت دراسة أخرى اختبرت فيها أليلات جميع المرضى الذين أدرجوا في الدراسة الأولية للفعالية الدوائية لدواء البوسيندولول وتبيّن أن الدواء كان فعالاً بصورة متميزة لدى المرضى متماثلي الزيغوت لأليل Arg بينما لم تكتشف فعالية تذكر لمتماثلي الزيغوت لأليل Gly أوعند متخالفي الزيغوت. وقد أقر استخدام الدواء لاحقاً فقط لدى المرضى متماثلي الزيغوت، وهم يمثّلون كما ذكر سابقاً 50% من جمهرة المرضى. وهكذا، يخضع المرضى لتحري نمط أليلي جين مستقبل بيتا 1 الأدرنرجي والتأكد من تماثل الزيغوت لأليلي Arg لديهم قبل البدء بالعلاج.

3.2.3.13. سرطان الثدي Breast Cancer

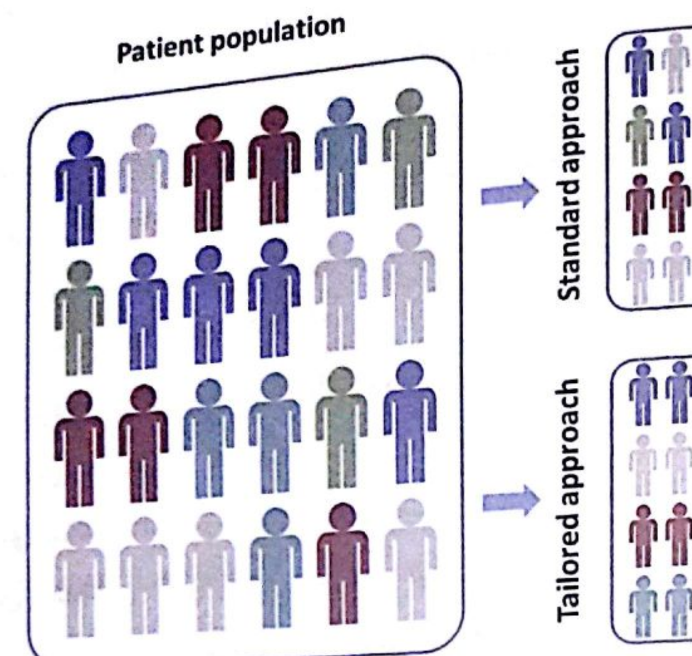
يحقق سرطان الثدي المرتبة الأولى في الانتشار لدى الإناث بالمقارنة مع أنواع السرطانات الأخرى التي تصيبهن، مؤدياً إلى نسبة عالية من الوفيات كل عام حول العالم. وتكون الخلايا السرطانية للثدي متغايرة بشكل ملحوظ من إذ وجود أوغياب بعض مستقبلاتها السطحية مما ينعكس بشكل مباشر على الاستجابة للمعالجة التي تتلقاها مريضات هذا النوع من السرطان. يستجيب جزء من مريضات سرطان الثدي للمعالجة الهرمونية بدواء التاموكسيفين Tamoxifen، الذي يتنافس مع هرمون الإستروجين على الارتباط بمستقبلات هذا الأخير على الخلايا السرطانية للثدي ويمنع بذلك تأثير الإستروجين المحرّض لانقسام الخلايا السرطانية. إلا أن الخلايا السرطانية لدى نحو60% من مريضات سرطان الثدي تكون سلبية مستقبل الإستروجين Estrogen–Receptor Negative أو ER^-، أي لا تعبّر الخلايا عن هذا المستقبل مما يحدّ من فعالية المعالجة بالتاموكسيفين لديهن. في المقابل، تعبّر الخلايا لدى 30% من مريضات سرطان الثدي بشكل مرتفع عن مستقبل آخر هو مستقبل عامل النمو البَشروي البشري Human Epidermal Growth Factor 2 أوHER–2، مما يمكّن من علاج المريضات من هذا النوع بأضداد تستهدف مستقبل عامل النمووتثبط قدرة الخلايا السرطانية على التكاثر. يدعى الدواء المكوّن من الأضداد بالهرسبتين Herceptin أوTranstuzumab وقد أدت المعالجة به إلى تحسّن كبير في علاج مريضات السرطان وخاصةً اللواتي يكون لدى خلايا هن تعبير ضعيف عن مستقبلات الإستروجين وتعبير مرتفع عن مستقبلات HER–2 مما أدى إلى تطوير اختبار لمقايسة مستوى التعبير عن كل من المستقبلين ER وHER–2 في خلايا سرطان الثدي عند التشخيص وقبل البدء بالمعالجة من أجل تحديد نمط المعالجة الأمثل الذي يثبّط بالحد الأقصى تكاثر الخلايا السرطانية.

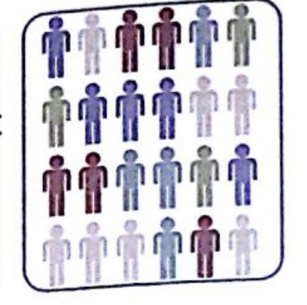
ويبيّن (**الشكل 13–3**) بعض الأمثلة السابقة إضافةً إلى عدة أمثلة أخرى لأدوية يمكن من خلال معرفة التكوين الوراثي لإنزيماتها المستقلِبَة أولمستقبلاتها توقع الفعالية الدوائية وتجنّب التأثيرات الضائرة إضافةً لاستهداف نوعي بالدواء لبعض الخلايا دون غيرها من خلال تغاير التعبير الجيني عن المستقبل البروتيني للدواء في الخلايا المستهدَفة.

وهكذا، ومن كلّ ما سبق، نرى أن بالإمكان توقع مدى الاستجابة العلاجية المتغايرة للدواء عند المرضى المختلفين في تكوين إحدى جيناتهم، و حيث يمكن فرز المرضى بحسب تكوينهم الجيني إلى مجموعات عدّة تستجيب فيها كل جمهرة من المرضى للمعالجة بصورة مثالية لأدوية مختلفة فعالة لديهم (**الشكل 13–4**)، بدلاً من تقديم أحد الأدوية الذي يمكن ألا تتجاوز فعاليته لدى المرضى نسبة 20% فقط. يُعرف مفهوم العلاج هذا بالمعالجة الفردانية Personalized Therapy للمرضى، التي تستهدف كل جمهرة من المرضى بحسب التكوين الجيني لديهم، وبحيث تمكن زيادة الفعالية العلاجية لديهم لتصل إلى المستوى المطلوب.



(الشكل 13-3) الآليات الثلاث المستهدِفة لتحسين الاستجابة الدوائية. (A) اختبار الأهداف النوعية أو المغناة للأدوية: ونجد هنا مثالين الأول يتعلق بدواء Imantinib، وهو مثبّط لفعالية التيروزين كيناز الذي يمتلكها الإنزيم مستقبل الدواء الناتج عن انصهار جينتي *BCR-ABL* الذي يحصل نتيجة إزفاء صبغي فيلادلفيا فقط في الخلايا السرطانية بينما لا يوجد مثل هذا المستقبل في الخلايا السليمة. والمثال الآخر هو لدواء الهرسيبتين أوTranstuzumab الذي يستهدف مستقبل Her2 الذي يزيد التعبير عنه (يُغنى) في خلايا سرطان الثدي بشكل واضح نسبةً لخلايا الثدي السليمة. (B) تقدير فعالية الدواء والجرعة المناسبة له: ونجد هنا مثالاً عن تقدير الحركية الدوائية لدواءين مضادين للتخثر هما Warfarin وClopidogrel، إذ يمكن تقدير الجرعة بحسب أشكال الإنزيمات المستقلبة لكلا الدوائين في جسم المريض، ومثالاً عن ديناميكية الدواء لكلا الدواءين عبر معرفة أشكال مستقبلَيْ (إنزيم VKORC مستقبل Warfarin) و(المستقبلين GPIIa/IIIb وP2Y12 لدواء Clopidogrel). (C) توقّع وتجنّب التأثيرات الضائرة للأدوية: ومثاله دواء Simvastatin ذوالفعالية الخافضة للكولسترول في مصل المرضى، إذ يمكن أن يؤدي هذا الدواء إلى اعتلالات عضلية إن لم يتم التقاط السمفاستاتين في الكبد بصورة جيدة نتيجة تعدد شكلي لمستقبله في الكبد SLCO1B1 وزيادة تركيزه في العضلات.





(الشكل 13-4) مفهوم المعالجة الفردانية. يأخذ هذا المفهوم بعين الاعتبار أن المرضى متغايرين فعلاً في تكوينهم الجيني، الذي ترمز إليه الألوان المختلفة للمرضى إلى يسار الشكل. فإذا ما تمت معالجة جميع المرضى بنفس الدواء، أو Treatment A، يمكن ألا تتجاوز الفعالية العلاجية نسبة 20%، بينما تكون ضعيفة أو حتى معدومة لدى الـ 80% من بقية المرضى (إلى يمين وأعلى الشكل). أما لدى فرز المرضى، كلّ بحسب تكوينه الجيني أو "لونه"، يمكن بذلك تقديم معالجات مختلفة A أو B أو C أو D لنحقّق الفعالية العلاجية المثلى لدى جميع المرضى.

4.13. الطب المجيني الفرداني (الشخصاني)

Personalized Genomic Medicine

انحصر تركيزنا في الأمثلة المذكورة آنفاً على التغايرات التي تطال جيناً واحدة فقط وتأثيراتها في المعالجة الدوائية. إلا أنه في الحقيقة، تكون معظم الاستجابات الدوائية ناتجة عن صفات معقّدة ومتداخلة Complex Traits. يمكن لدواء أن يُظهر تأثيره بشكل مباشر أومن خلال مُستَقلبات أكثر فعالية، يمكن لكل منها أن يُستقلَب عبر سبل مختلفة ويُظهِر تأثيره في الكثير من الأهداف. وهكذا، يمكن لتغايرات جينية في أكثر من موقع جيني أن تتأثر معاً، بشكل متوازي Synergistically أومتعاكس Antagonistically، الأمر الذي ينتج عنه إما زيادة في سمية الدواء وإما انخفاض في فعاليته. وهكذا، يمثّل تحديد مُرتسَم مجيني دوائي Pharmacogenomic Profile، يأخذ بعين الاعتبار التأثير الكلي للتغايرات الجينية المتعددة، وأيضاً العوامل البيئية على الاستجابة للأدوية بما في ذلك الأدوية الأخرى المعطاة بشكل متزامن، ضرورة ملحّة قبل أن نحدّد بدقة المعايير التي تقودنا للمعالجة الدوائية المثالية للمرضى. وإذا ما حدّد المُرتسَم المجيني الدوائي، عندها يمكن استخدامه لتوقّع الفعالية والتأثيرات الضائرة للدواء لدى فرد ما قبل أن يقدم الدواء له، وأيضاً أن نحدد المرضى الذين يجب أن يتلقوا معالجة أكثر

صرامة ونراقبهم للتأكد من تحقيقهم للمستويات العلاجية المناسبة. ويكون الهدف النهائي أن يحقق المرضى الدواء الأفضل بالجرعة الأمثل ويتجنبوا التأثيرات الضائرة الخطرة. ولذلك، فمن المتوقع أن يأخذ علم الوراثة المجيني الدوائي Pharmacogenomics أهمية أكبر في صنع القرار العلاجي الأمثل في السنوات القادمة وتلقي المرضى لدواء فرداني Personalized، يعتمد على دراسة كل مريض على حدة وتقدير نوع وكم الدواء الأمثل له.

في الواقع، إن مبدأ الطب الفرداني ليس جديداً. فقد أشار إلى ذلك العالم الإغريقي أبُقراط Hippocrates في القرن الرابع قبل الميلاد بقوله: "إن معرفة المريض الذي يُصاب بالمرض هي أهم من معرفة المرض الذي يصيب المريض". وكانت المحطة التالية مع الطبيب الإنكليزي Archibald Garrod في بداية القرن العشرين الذي اقترح مبدأ الفردانية الكيميائية، إذ ينسب له القول إن "العوامل التي تسيطر على استعدادنا المسبق ومناعتنا تجاه الأمراض هي موروثة ضمن بنيتنا الكيميائية نفسها، ضمن المجموعات الجزيئية التي تكوّن الصبغيات".

إن هدف الطب المجيني الفرداني Personalized Genomic Medicine هو استخدام المعرفة حول جميع التغايرات الجينية للفرد وثيقة الصلة بالدواء بهدف الحفاظ على صحته أومعالجة مرضه كجزء من الرعاية الصحية الروتينية. ونستطيع اليوم أن نقدّر النمط الجيني عند جميع المواقع الجينية باستخدام تقانة سلسلة كامل المجين Whole Genome Sequencing. في الواقع، تخطط بعض الدول للقيام بسَلسَلة مجائن جميع أفراد مجتمعاتها خلال السنوات القليلة القادمة وحفظ تلك المعلومات للاستفادة منها بالطب الفرداني.

لكن في المقابل، تواجه تطبيقات الطب المجيني الفرداني الكثير من التحديات:

- الكلفة العالية جداً لسَلْسَلِة المجين لدى جميع المرضى، مع أن هذه الكلفة آخذة بالانخفاض نتيجة التطور التكنولوجي السريع.
- تفسير نتائج التحاليل المجينية، التي تحتاج إلى وقت طويل وإلى خبراء في علم يدعى المعلوماتية الحيوية Bioinformatics، ويختص بمقارنة تسلسلات كامل المجين (أكثر من 3 مليارات نوكليوتيد) بين أفراد المجتمع وفرز الفروق المهمة المؤثرة في النمط الظاهري للأفراد عن تلك غير المؤثرة.
- حتى لو وجدت تغايرات جينية تترافق مع شذوذات مرضية أو تباينات في الاستجابة للأدوية، فإن نسبة انتفاذ Penetrance النمط الظاهري الناتج عن تلك التغايرات إلى أفراد المجتمع قد تكون قليلة.
- إن الطب المجيني الفرداني هو فقط أحد مكوّنات ما يدعى بالطب الدقيق Precision Medicine، الذي يتطلب دمج البيانات الجينية مع معلومات فيزيولوجية وكيميائية حيوية وبيئية أخرى.

وأخيراً، يبقى الهدف النهائي لشفاء الأمراض هو التوجّه إلى تشخيص ووقاية وعلاج أكثر دقةً. وقد بدأ ذلك في السنوات القليلة الماضية مع إدراج مفهوم الوراثة الدوائية لكن لا يزال هنالك الكثير من العمل أمامنا قبل أن يصبح الطب الفرداني جزءاً لا يتجزّأ من الطب المطبق حالياً.

الفصل الرابع عشر

علم الوراثة السرطانية

Cancer Genetics

المحتويات Contents

السرطان هو مجموعة من الاضطرابات تتشارك فيما بينها بنمو خلوي غير مضبوط، وتنجم عن التبدلات في الجينات التي تنظم الدورة الخلوية خلال الانقسام الفتيلي فتنقسم باستمرار مشكلة الورم الذي قد يكون حميداً لا ينتشر أو خبيثاً ينتشر إلى الأنسجة والأعضاء الأخرى من الجسم تسمى النقائل.

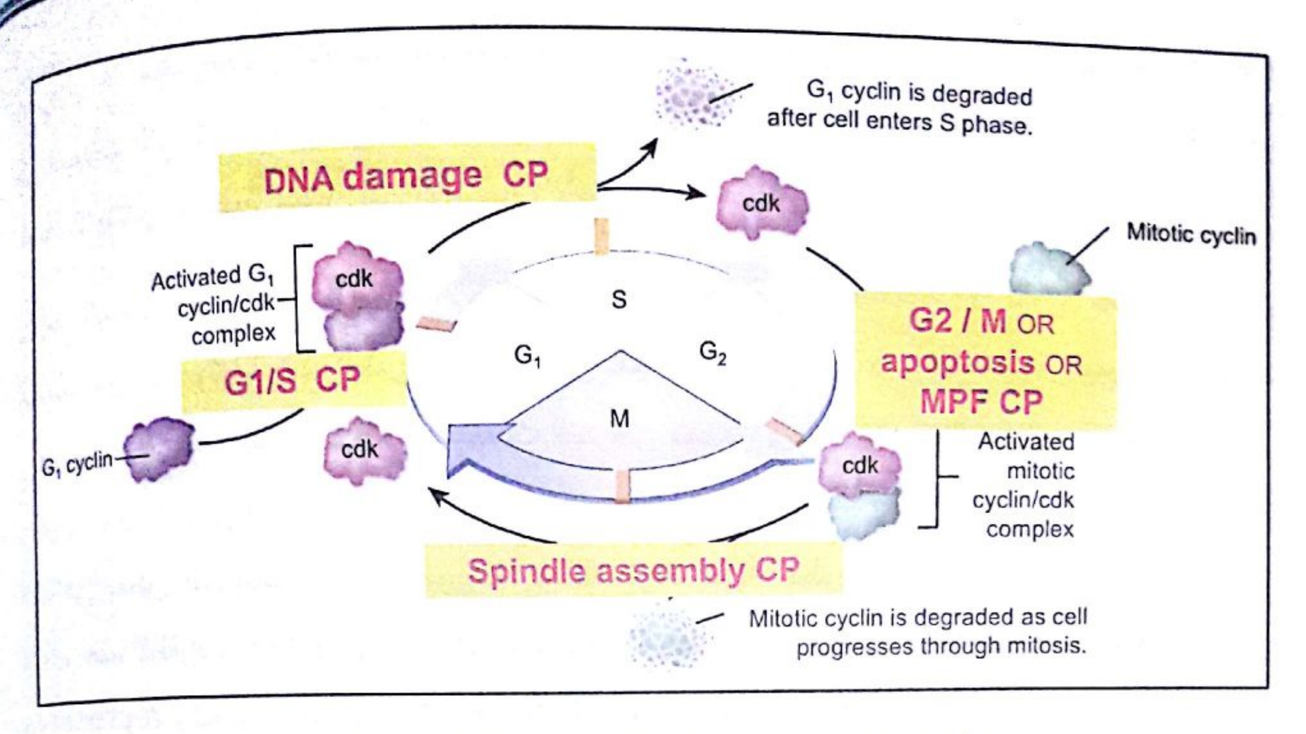
خلافاً لأنماط الاضطرابات الوراثية الأخرى، ومن أجل معظم السرطانات، لا تكون الطفرات الوراثية المسببة موروثة. وتنشأ تلك الطفرات في الخلايا الجسمية أثناء سن المراهقة نتيجة التعرض لمطفّرات بيئية. وتشترك عادة طفرات عديدة في إحداث التسرطن مما يؤدي إلى آثار تراكمية تزيد في حدة المرض. وتكون الطفرة الأولى في 5–10% من السرطانات الشائعة (كسرطان الثدي والقولون) وبنسبة أعلى من ذلك في بعض السرطانات النادرة موروثة، وبذلك تزداد نسبة خطورة حدوث السرطانات عند الأقارب. تشمل هذه الطفرات عادة (الموروثة والمكتسبة) ثلاثة أنماط من الجينات: الكاظمات الورمية Tumor repressors والجينات الورمية Oncogenes والجينات المعنية بآليات إصلاح الدنا، ويُعنى النمطان الأول والثاني عادة بالسيطرة على التكاثر والنمو الخلويين، وإن تخريب آلية هذه السيطرة هو السمة الدالة على نشوء السرطان.

1.14. ضوابط الدورة الخلوية Cell Cycle:

يعتمد توقيت ومعدل وعدد الانقسامات الخلوية على:

1. عوامل النمو ومستقبلاتها والهرمونات.
2. جزيئات التنبيغ signaling.
3. عوامل الانتساخ النووية nuclear transcription factors.
4. نقاط التحقق checkpoints الدورة الخلوية وهي بروتينات تنظيمية تضمن أن الأحداث التفتلية تحدث في التتالي الصحيح وهي منتجات جينية تخصصية (**الشكل 14–1**).
5. السيكلين والكيناز المعتمد على السيكلين ومثبطات السيكلين.
6. طول القسيمات الطرفية.
7. التماس الفيزيائي.



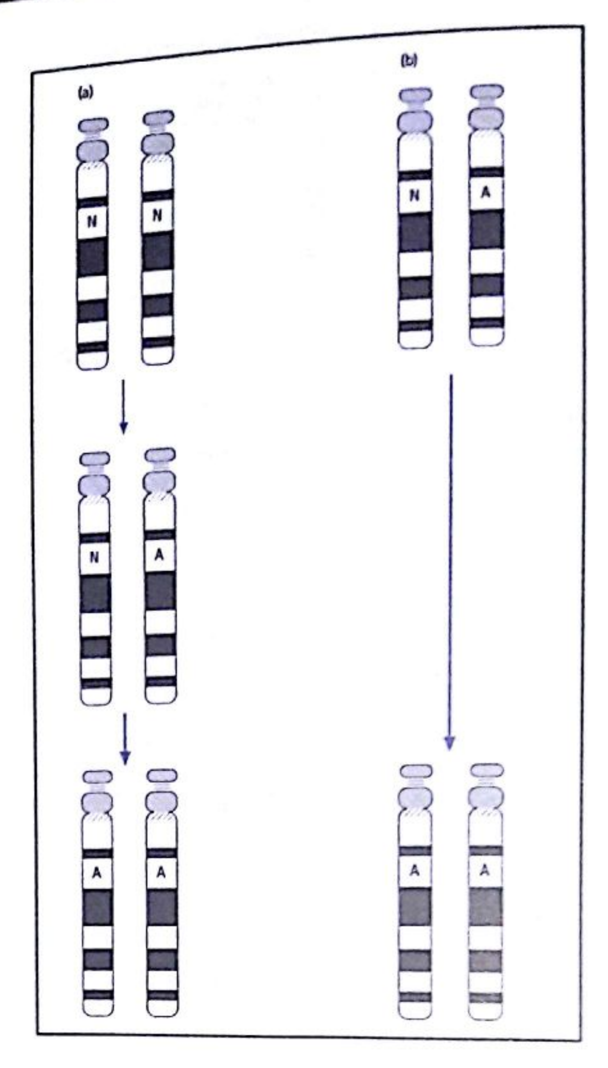


(الشكل 14-1): نقاط تحقق checkpoints الدورة الخلوية.

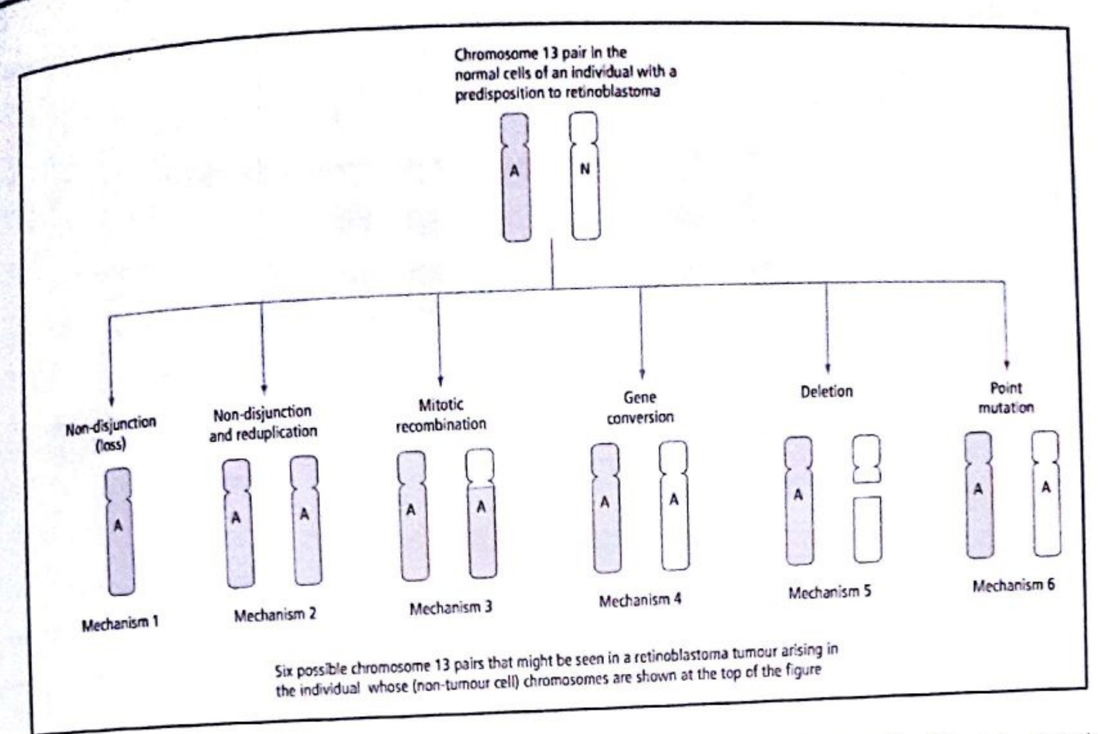
2.14. الجينات الكابتة للورم Tumor Suppressor Genes:

وهي التي تمنع بشكل طبيعي التكاثر الخلوي غير المنضبط من خلال مشاركتها في السبل المنظمة للدورة الخلوية وقد تحرض الاستماتة Apoptosis، اكتشفت هذه الجينات أول مرة نتيجة دراسات أجريت على سرطانات نادرة كالورم الأرومي الشبكي Retinoblastoma، وهو ورم عيني أكثر شيوعاً في فترة الطفولة، وتصاب العينان في 20-30% من الحالات. وإن جميع الحالات ثنائية الجانب و15% من الحالات الأحادية الجانب تكون موروثة كخلة سائدة جسدية. تتوضع الجين المسؤولة على الذراع الطويل للصبغي رقم 13، ويغيب الناتج البروتيني الوظيفي لهذا الجين في النسج الورمية. ويحدث عيب في الأليل غير الطافر ضمن الخلية الشبكية حتى تظهر الخلة.

ومن الحالات غير الموروثة لهذا الورم، تحث طفرتان منفصلتان من جديد *de novo* في كلا الصبغيين المتناظرين رقم (13) في الخلية الشبكية (**الشكل 14-2**)، وبذلك تكون الإصابة ثنائية الجانب بعيدة الاحتمال، ويكون العمر في مثل هذه الحالات متقدماً. تكون الطفرة الأولى في الورم الأرومي الشبكي الشائع أو غير الموروث نقطية عادة (من نمط الهرائية Non-sense، أو انزياح الإطار Frameshift، أو خطأ تضفير Splicing error مما يؤدي إلى عدم إنتاج بروتيني أو إنتاج بروتين معيب. أما في الطفرة الثانية فيحدث فقدان كلي أو جزئي للصبغي رقم (13) بسبب عدم انفصال صبغي، أو يحدث خبن صبغي جزئي له (**الشكل 14-3**).



(الشكل 14-2): يظهر نسخ من الصبغي 13 إما مع الجين السوي (N) أومع الجين الشاذ (A) للورم الأرومي الشبكي الموروث.



(الشكل 14-3): آليات فقد الأليل الثاني للورم الأرومي الشبكي (الجين السوي N والجين الشاذ A).

وتؤدي الطفرة الثانية غالباً (60% من الحالات) إلى فقدانات متنوعة للألائل الموجودة على الصبغي (13) بما في ذلك الموضع الجيني المسؤول عن الورم الأرومي الشبكي. ويمكن كشف ذلك بتحليل الدنا الذي يظهر فقداناً في تخالفية الألائل Loss of Heterozygosity (LOH) للمسابر داخل منطقة الخبن.

درست أنماط جينية عديدة في حالات فقدان تخالفية الألائل للصبغي (13) بغية تحديد مواضع جينية كابتة للورم أخرى. وحدد ما ينوف على العشرين موضعاً جينياً، ونُسّل الكثير منها بما في ذلك جينات الورم الأرومي الشبكي. والـ (P53) وجينات داء السلائل القولونية الغدومي Adenomatous Polyposis Coli. ويبدو أن الطفرات الحادثة على الصبغي -17-(p17) للموضع الجيني لجين الـ *p53* هوالتغير الجيني الأكثر شيوعاً في السرطانات. ففي سرطان القولون على سبيل المثال، يظهر 75-80% من الأورام فقداناً في تخالفية الألائل من أجل (P53) والمواضع الجينية المجاورة، ويلاحظ ذلك في أورام أخرى بما في ذلك سرطان الرئة وسرطان الثدي وسرطانات الدماغ وسرطان الكبد والابيضاض النقوي المزمن Chronic Myeloid Leukemia.

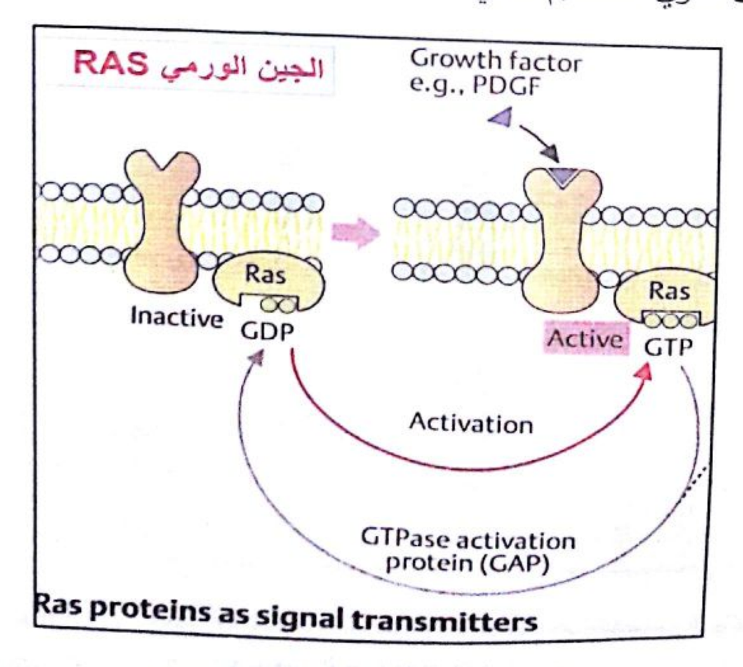
وتكون طفرة (*p53*) الأولى في سرطان القولون نقطية ناتجة عادة عن قلب من C إلى T في ثنائي النوكليوتيد CpG (ولاسيما في المواضع 175، 248، 273، 283). ويختلف نمط الطفرة والمواضع في أورام أخرى. فعلى سبيل المثال، تنتج الطفرة في سرطان الكبد المحرض بالـ Aflatoxin عن قلب من

GpC إلى TpC في الموضع 249 في معظم الحالات، ويصادف في سرطان الرئة تبدل من CpN إلى ApN في طفرات (*p53*).

وتستطيع طفرتان معطلتان في موضع جين الورم الأرومي الشبكي إحداث التسرطن. ويتوقع اشتراك عدة مواضع جينية بمراحل عديدة من التبدل في إظهار الغالبية العظمى من الأورام. ويفهم هذا التطور المتعدد المراحل جيداً في سرطان القولون، إذ تشترك ثلاثة مواضع جينية كابتة للورم على الأقل وموضع جين ورمية على الأقل في ذلك.

3.14.الجينات الورمية Oncogenes:

وهي التي تنشط بشكل طبيعي الانقسام الخلوي، ويوجد أكثر من مئة جين ورمي تسبب السرطان إذا تم تفعيلها بشكل غير ملائم، اكُتشفت الجينات الورمية أول مرة عند التحليل الجزيئي للفيروسات القهقرية Retroviruses الورمية التي تسبب سرطانات في الفئران والقطط والقرود. على سبيل المثال، ينشأ الجين الورمي *RAS* (من فيروس روس الساركومي الطيري Rous Avian Sarcoma Virus) عند الدجاج ويسبب تشكل ورم ساركومي فيه. وينشأ كل جين ورمي فيروسي (*V-onc*) في الواقع من جين في ثوي طبيعي (الذي لا يكون مسرطناً في الحالة الطبيعية) بوساطة حدوث تأشيب بينه وبين المجين الفيروسي السلفي (**الشكل 14-4**). وقد تم عزل وتخطيط أكثر من مئة نسخة من الجينات الورمية الخلوية الطبيعية حتى الآن وتعيين مواضعها على خريطة الصبغيات البشرية (الجينات الورمية *C-onc*). ويمكن تنشيط هذه الجينات الورمية البشرية لتحدث سرطانات نتيجة لطفرات نقطية أو لإعادة ترتيب صبغي أو بشكل ثانوي لتضخيم جيني Gene Amplification.

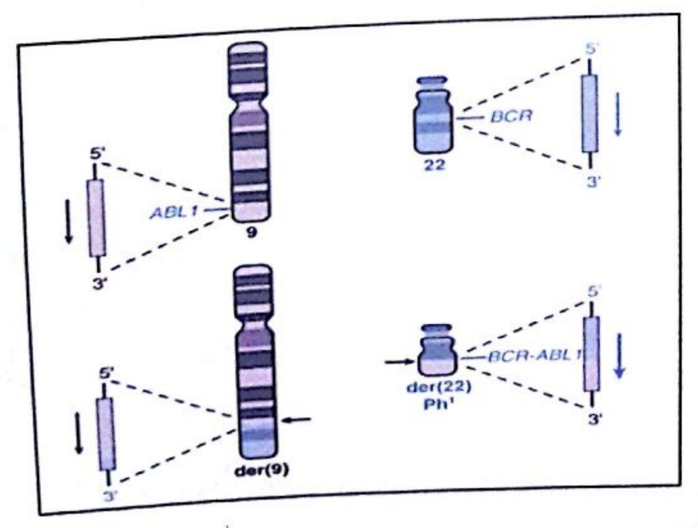


(الشكل 14-4): يوضح الجين الورمي *RAS*.

وضحت مقارنة سلسلة الدنا للجينات الورمية C–Oncogenes في النسج الورمية مع تلك الموجودة في نسج أخرى جسدية إن الطفرات النقطية النوعية تحدث أنماطاً ورمية مختلفة. على سبيل المثال، وفي الجين *HRAS*، يتوضع الحمض الأميني الغلايسين في الموضع 12، ولكن توجد في النسيج الورمي لبعض المرضى المصابين بسرطان المثانة وسرطان الرئة والميلانوم طفرة نقطية (من GGC إلى GTC) تستبدل بالفالين الغلايسين في الموضع 12. هذه الطفرة لا تورث، بل تنشأ كطفرة في الخلايا الجسدية المنشئة للسرطان. وتم التعرف على طفرات نقطية نوعية أخرى في مواضع حاسمة ضمن جين *HRAS* (مثلاً: الموضع 13، 119، 61) وغيرها من الجينات الورمية.

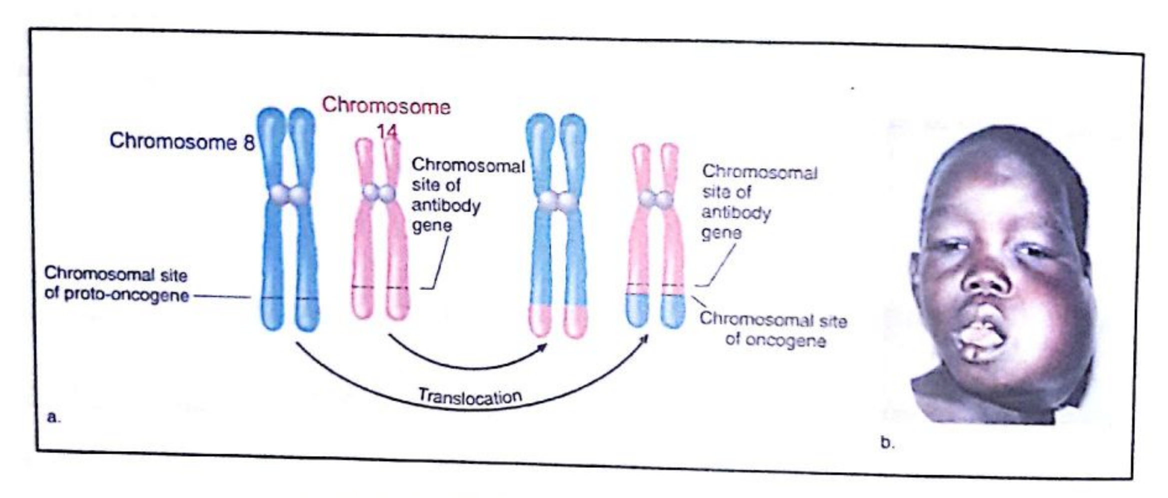
ويمكن إظهار وجود جين ورمي نشيط بكشف وإما قدرات أو مقدرة خلاصات DNA الورم على نقل الأثر إلى سلالة خلوية حساسة له وإنتاج نسائل خبيثة عند القوارض. ويمكن تنشيط الجينات الورمية البشرية أيضاً نتيجة لإعادة ترتيب الصبغيات. ومثال ذلك في ابيضاض الدم النقوي الحاد (CML) ووجود صبغي فيلادلفيا Philadelphia Chromosome. تبدي الغالبية العظمى من المرضى المصابين هذا الصبغي (صبغي أصغر من الصبغي رقم 22 الطبيعي) ضمن خلايا نقي العظم الخبيثة (ولكن ليس في النسج الجسدية غير المصابة). وهو في الواقع إزفاء صبغي متبادل بين الصبغي رقم 9 (يكون عادة أبوي المصدر) والصبغي رقم 22 (يكون عادة أمومي المصدر) **(الشكل 14–5)**.

نتيجة لذلك ينقل الجين الورمي *ABL* من موضعه الطبيعي في (9q34) إلى (22q11) إذ تترتب من جديد ضمن متتالية نوعية تدعى منطقة عنقود نقط الانكسار Breakpoint Cluster region (BCR). إذ يُنتج الجين الهجين بروتيناً جديداً في خلايا CML يعتقد أنه المسؤول عن التحول إلى الخباثة **(الشكل 14–5)**.



(الشكل 14–5): صبغي فيلادلفيا، ناتج عن إزفاء متبادل بين الصبغي 9 و22. [t(9;22)(q34; q11)].

ونجد مثالاً مهماً آخر في لمفومة بوركيت Burkett's Lymphoma. وهي خباثة الخلايا البائية (B-cells) التي تتميز بإزفاءات مواضع صبغية نوعية تشمل 8q24k مع إمّا 2p11، 14q32 أو 22q11 ينتقل الجين الورمي *MYC* الذي يتوضع بصورة طبيعية في 8q24 إلى الموضع 14q32 في معظم الحالات، ويبدو أن الجين *MYC* يتفعل بمعززات Enhancers جين سلسلة الغلوبيولين المناعي الثقيلة المتوضعة عند 14q32 (**الشكل 14-6**). وفي الإزفاءات الأخرى بُرهن أن أجزاءً من جينات السلسلة الخفيفة (كابا في الموضع 2p11 ولامبدا في الموضع 22q11) تُنقل لتفعيل موضع الجين *MYC* في 8q24. ويسبب إعادة ترتيب جين سلسلة الاستقبال الفا للخلايا التائية بنقلها من 14q11 إلى موضع جينات السلسلة الثقيلة للغلوبيولين المناعي في 14q32 بوساطة عملية الانقلاب قرب القسيم المركزي حدوث لمفومات الخلايا التائية T-Cells.



(الشكل 14-6): يوضح الجين الورمي *MYC* ولمفوما بوركيت.

توضح هذه الدراسات أهمية التعرف على إعادة الترتيبات الصبغية الجديدة النوعية في الخلايا الورمية. بيد أنه، من أجل الكثير من الأورام ذات الدلالات الخلوية الوراثية النوعية، لم تحدد جينات ورمية أوكابتة للورم حتى الآن في المواضع الصبغية المخصصة، وتبقى آلية حدوث المرض غامضة. علاوة على ذلك، وكما هي الحال في فقدان الألائل الذي يُكشف بتحليل الدنا يمكن أن تحدث شذوذات صبغية في أورام مختلفة الأنماط، ولا يزال سبب ذلك مجهولاً.

مميزات الجينات الورمية:

- طفراتها من النمط السائد Dominant
- تتفعل بطفرات من نمط كسب الوظيفة Gain of Function

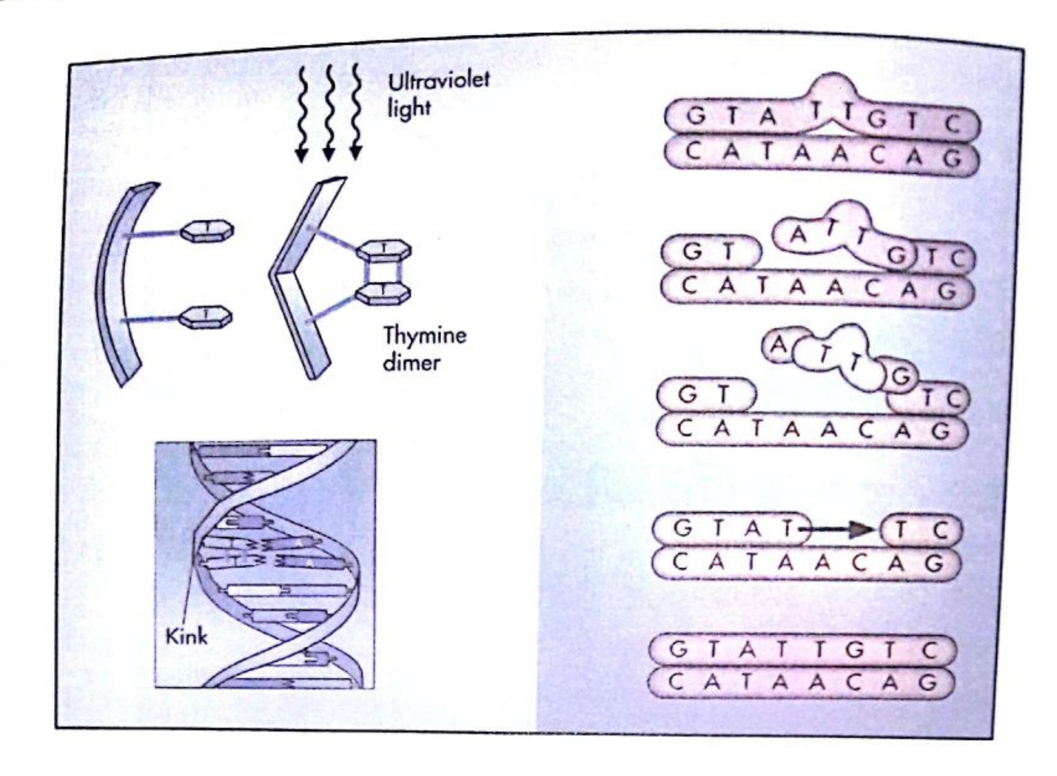
- فبسبب الطفرة يصبح بروتين الجين الورمي ثابت النشاط مما يسبب عدم توقف التكاثر الخلوي ونقول عن هذه الخلية إنها استحالت Transformed.
- معظم طفرات الجينات الورمية فرادية Sporadic وتحصل في الخلايا الجسدية ويشاهد القليل من طفراتها في خلايا الخط الإنتاشي (فهي غير وَروثة، أي لا تورّث).

طرائق تفعيل (طليعة) الجينات الورمية:

- التضخيم Amplification ومثالها تضخيم جين *N–MYC* الذي يسبب الورم الأرومي العصبي Neuroblastoma.
- طفرة نقطية Point Mutation ومثالها جين *HRAS* الذي يسبب سرطان المثانة.
- إعادة تراتب صبغية Rearrangement تخلق جيناً هجيناً ومثالها جين *ABL* الذي يسبب الابيضاض النقوي المزمن.
- إزفاء جين إلى ناحية كروماتين ينتسخ بنشاط، ومثاله جين *MYC* الذي يسبب ورم بوركيت مثل t(8;14)(q24;q32).

4.14. جينات إصلاح الدنا DNA–Repair Genes:

توجد آليات خاصة ترمم الـ (DNA) وتصحح الأذيات المتكونة فيه الناجمة عن عمل مطفرات بيئية وعن التوضع الخاطئ للأسس الآزوتية أثناء التنسخ Replication. وتؤدي العيوب الموجودة في أي من النظامين إلى تزايد نسبة حدوث السرطان، في حين تؤدي المطفرات البيئية إلى اضطرابات متنحية جسمية نادرة عموماً (مثل: جفاف الجلد الصباغي Xeroderma Pigmentosa)، فإن الخطأ في إضافة الأسس أثناء التنسخ شائع، ويورث كخلال جسدية سائدة. وحُدد في المجموعة الثانية أربعة مواضع جينية مسؤولة (*MSH2*،*MLH1*،*PMS1*،*PMS2*)، وتتفاعل منتجات هذه الجينات بصورة طبيعة فيما بينها مؤثرة في سير عملية الإصلاح. مع فقدان الأليل الثاني الطبيعي الجسدي تصبح الخلية عرضة لتراكم الطفرات الجينية، وعاقبة ذلك إن التكرارات الساتلة الصّغرية Microsatellite Repeats عند الموضع المتعدد الأشكال يمكن أن تختلف عن الأنسجة الطبيعية المحيطة (وتسمى أيضا +REP أي إيجابية خطر التنسخ Replication Error Positive) **(الشكل 14–7)**.



(الشكل 14-7): جينات إصلاح الدنا، ينجم جفاف الجلد الصباغي عن اختلال إصلاح استئصال مثنوية تيمين ويحدث فيه سرطان جلد.

5.14. جينات أخرى Other Genes:

على سبيل المثال، يزداد اختطار حدوث سرطان المثانة عند عمال أصبغة الأنيلين بطيئي الاستقلاب للإيزونيازيد Isoniazid.

وغالباً ما تزداد نسبة حدوث التبدلات الصبغية أثناء تطور السرطان، الأمر الذي يزيد في خباثته. وترتبط هذه التبدلات غالباً بعملية تضخيم للجينات الورمية أو باشتراك جينات ورمية جديدة. يمكن أن يزداد عدد نسخ جين ورمي ما بحدوث تكرارات عديدة، غالباً ما تكون على شكل مناطق صبغية متجانسة التلون HSRS أو على شكل سلاسل من قطع رفيعة تدعى الدقائق المضاعفة Double Minutes (عناصر خارج صبغية مضاعفة صغيرة يعوزها القسيم المركزي). ويمكن أن تحتوي هذه الدقائق المضاعفة جينات تملك أفضلية انتخابية من أجل الورم مثل أنزيم Dihydroflate Reductase عند المرضى المعالجين كيميائياً بال Methortrexate وتميل هذه إلى الاختفاء حالما يرفع عنها الضغط الانتخابي، ما لم تضاف إلى صبغيات الخلايا على شكل HSRS **(الشكل 14-8)**.



(الشكل 14-8): رسم لانتشار الصبغيات موضّح الدقائق المزدوجة (بعضها مشار إليه بالسهم).

6.14. السرطان الموروث حيال الفرادي:

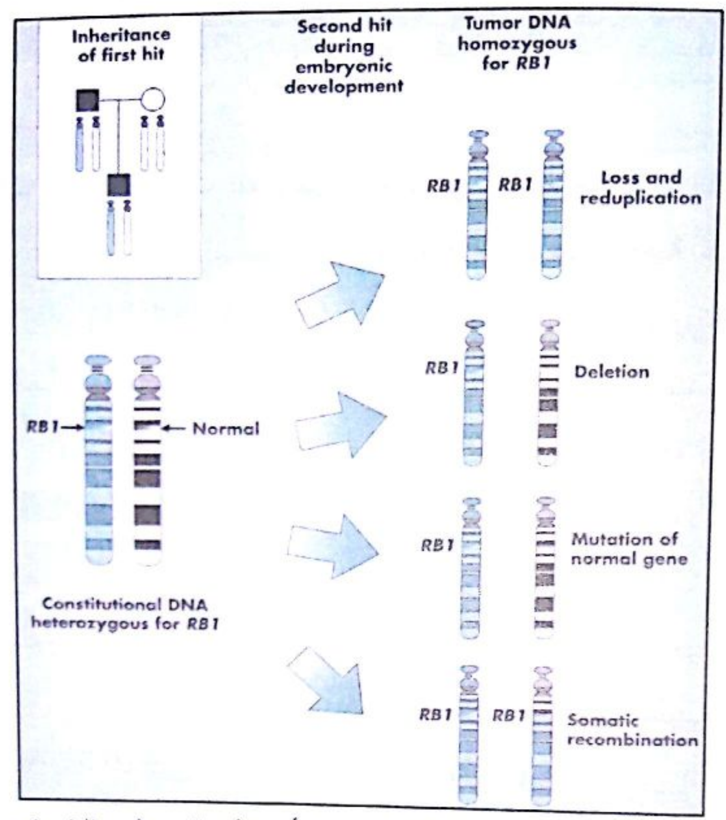
يجب التمييز بين الطفرة المسببة للسرطان الموجودة في كل خلايا الجسد بما فيها خلايا الخط الإنتاشي (طفرة بنيوية Constitutional) وتكون منتقلة من الوالد المصاب وبين طفرة جسدية ثانية تحدث من جديد *de novo*. ويقدر أن 10% فقط من السرطانات تورث من الوالد المصاب. الذي يورث هو عادة الاستعداد للسرطان.

7.14. فرضية Knudson أونموذج التسرطن بالضربتين

:Two-Hit Model Carcinogenesis

في الشكل الموروث للورم يرث المصاب طفرة من والده المصاب كخطوة أولى، فتكون بنيوية ومن النمط النقطي (هرائية أو انزياح الإطار أو خطأ تضفير) فتكون جميع خلايا الجسم مؤهبة لحدوث السرطان، ويحتاج هذا الفرد إلى طفرة جسدية ثانية غير نوعية تحدث إما بفقد الصبغي الطبيعي وإما تضاعف الطافر وإما طفرة نقطية فيه وإما خبن وإما تأشب جسدي Somatic Recombination.

نأخذ كمثال الورم الأرومي الشبكي Retinoblastoma، ويسمى الجين المسبب لهذا الورم *RB1* وموضعه في 13q (**الشكل 14-9**).



(الشكل 14-9): فرضية KNUDSON أونموذج التسرطن بالضربتين.

8.14. عدم استقرار المجين Genomic Instability:

هو مصطلح يشمل تقريباً كل الخلايا السرطانية وهوعلى مستويين: صبغي وجزيئي.
وينجم عن عيوب في البروتينات المسؤولة عن انفصال الصبغي أثناء الانقسام الفتيلي (خلل في نقطة مراقبة المغزل)، أو عن عيوب في البروتينات المطلوبة من أجل الانقسام الخلوي المضبوط والدقيق، أو عن عيوب في البروتينات المسؤولة عن تصليح الدنا. ويكون سبب هذه العيوب طفرات فرادية عادة أو موروثة في بعض الأحيان، فتسبب سرطانات موروثة.

9.14. الأهمية السريرية للدراسة الجينية للسرطان:

إن للدراسات الوراثية (صبغية وتحليل الدنا) أهمية كبيرة في تشخيص وتحديد إنذار عدد متزايد من الأورام. وقد دُرست ابيضاضات الدم أكثر من غيرها ومن الممكن استخلاص بعض النتائج العامة من ذلك.

أولاً: يبدوأن الحدث الصبغي الأول هو الذي يحدد القاعدة الحيوية للمرض. فعلى سبيل المثال، يمكن أن يرتبط النمط (FAB TYPE 2) لابيضاض الدم النقوي الحاد AML بثلاثة تبدلات صبغية ورمية. يملك مرضى AML الذين لديهم الإزفاء t(8:21) عادة أجسام AUER ضمن خلايا الابيضاض (المصابة)، ويستجيبون بسرعة للمعالجة مع هجوع طويل ويتميزون ببقيا طويلة نسبياً. وخلافاً لذلك، يبدي مرضى AML مع الإزفاء t(9:22) (صبغي فيلادلفيا) إنذاراً ضعيفاً، كما يبدي المرضى ذوو الإزفاء t(6:9) درجة متوسطة من النجاة.

ولوحظت الإزفاءات في نحو ثلث المرضى المصابين بابيضاض الدم النقوي الحاد، ولهؤلاء إنذار أضعف من أولئك الذين يملكون أنماطاً نووية طبيعية أو زيوغاً صبغية عددية، ومن بين التبادلات الصبغية يعطي الإزفاء t(4;11) و t(9;22) إنذاراً ضعيفاً لدرجة كبيرة. ويتميز ابيضاض الدم الثانوي بعد التعرض للمعالجة الكيميائية أو التشعيع أو المركبات السامة بوجود تبدلات تشمل الصبغي رقم -5- والصبغي رقم -7- والصبغي رقم -17- ورقم -12- ورقم -3-، ويبدو أن للمرضى أحاديي الصبغي Monosomic بالنسبة إلى الصبغي رقم -5- أو -7- الإنذار الأسوأ ضمن هذه المجموعة. ويملك معظم المرضى المصابين بابيضاض الدم النقوي المزمن CML الصبغي فيلادلفيا، ولكن 10% منهم لا يملكون هذا الصبغي. ويمكن أن يملك هؤلاء المرضى الأخيرون إزفاء صبغياً خفياً من نمط فيلادلفيا (مزيّق أو إزفاءات أكثر تعقيداً)، أو يمكن أن يكونوا سلبيي الصبغي فيلادلفيا فعلاً. ويظهر المنتج BCR/ABL لدى مرضى المجموعة الأولى، ويبدون نفس المرض مثلهم مثل المرضى موجبي الصبغي فيلادلفيا، بينما لا يظهر هذا المنتج لدى المرضى سلبيي الصبغي فيلادلفيا الحقيقيين وله أسوأ إنذار.

ثانياً: عادة ما تدل تبدلات الصبغيات الإضافية على سوء الإنذار. فعلى سبيل المثال يسير المرض سيراً حميداً عند مرضى AML ابيضاض الدم النقوي الحاد الذين يملكون الإزفاء t(8;21) حتى تظهر تبدلات صبغية جديدة، تكون عادة فقداناً في صبغي جنسي X أو زيادة الصبغي رقم -8- الإضافي أو شذوذات أخرى في الخلايا المصابة، إذ يسوء المرض. ويصبح بعدها أكثر عدوانية ومقاومة للمعالجة الكيميائية، ويصعب الشفاء، ويقصر العمر النسبي. علاوة على ذلك، يمكن القول بوجود علاقة ترابطية بين عدد التغيرات الإضافية وزيادة سوء الإنذار.

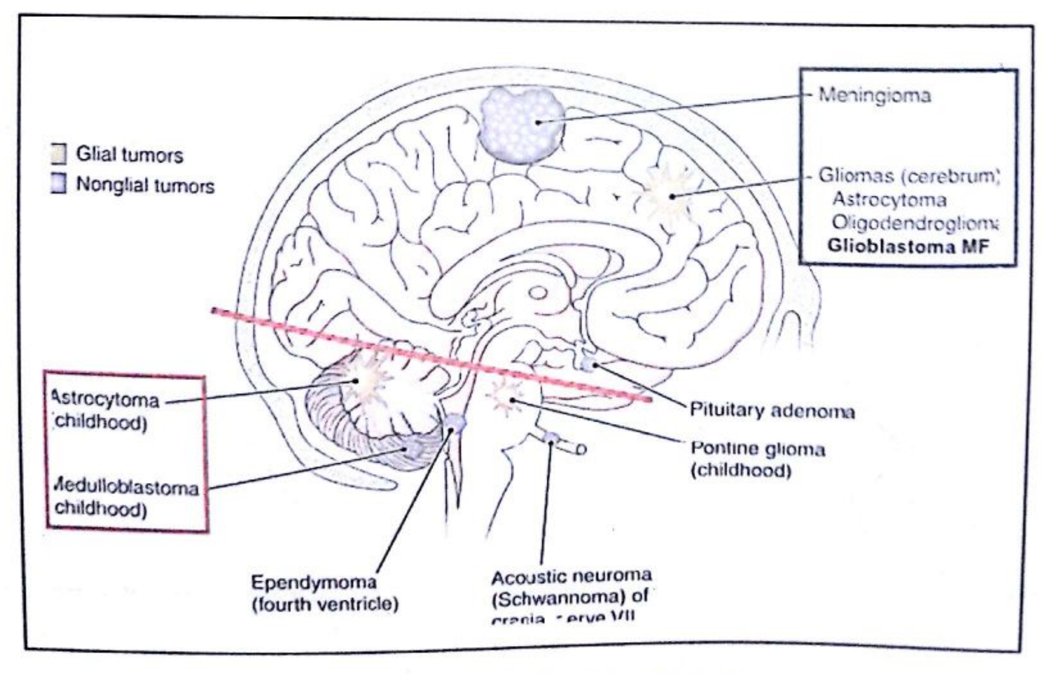
ثالثاً: يمكن أن يسبق حدوث شذوذات النمط النووي الدلالات السريرية لتسارع المرض والنكس. على سبيل المثال، ينذر وجود تغيرات صبغية ثانوية (ولا سيما الصبغي الإسوي Isochromosome 17q، تثلث الصبغي رقم -8-، تثلث الصبغي رقم-19-، فقدان الصبغي Y، أو وجود صبغي فيلادلفيا إضافي) حدوث طور الأرومات الحادة Acute Blastic Phase عند مرضى CML موجبي الصبغي فيلادلفيا، ويمكن أن تظهر هذه التبدلات قبل ظهور أي دليل سريري أو دلائل أخرى لهذا الطور بأسابيع إلى أشهر قليلة.

10.14. الاستنصاح الوراثي في السرطان Genetic Counseling of Cancer:

نعرض فيما يلي النقاط الرئيسة للاستنصاح الوراثي في السرطانات الشائعة لدى المرضى المصابين وعوائلهم. ويلاحظ هنا أن اختطار الرجعة عند الأقارب الآخرين يكون منخفضاً من أجل الأنماط الورمية الشائعة منها دون قصة عائلية. ويجب الشك بوجود متلازمة السرطان العائلي (نوعي أو لا نوعي التوضع) عند وجود قصة عائلية إيجابية، أو إذا كان البدء مبكراً عند المستلفت، أو عند وجود أورام أولية متعددة العوامل. كما يجب الشك بوجود اضطراب يعود لعمل جين فرداني إذا ما ظهرت سمات أخرى.

1.10.14. أورام الدماغ Brain Tumors:

إن أورام الدماغ البدئية غير شائعة، إذ تكون نسبة الشيوع (1 إلى 100,000). وتميل هذه الأورام للظهور في الحفرة الخلفية Posterior Fossa من القحف عند الأطفال، ومعظمها يقع فوق الخيمة الدماغية Supratentorial عند البالغين. وتكون معظم هذه الأورام فرادية الانتشار في المجتمع، ويكون خطر الحدوث عند الأقارب منخفضاً، ويجب استبعاد اضطراب الجين الفرداني إذا كانت هناك سمات مشتركة (مثال: ورام ليفي عصبي Neurofibromatosis النمط 1 و2، التصلب الحديبي Tuberous sclerosis، مرض Von Hippel–Lindau ومتلازمة Li–Fraumeni (الشكل 14–10).



(الشكل 14–10): أهم أورام الدماغ الشائعة.

2.10.14 . سرطان الثدي Breast Cancer:

تقدر نسبة خطورة الحياة للأنثى المصابة بسرطان الثدي بـ (1 إلى 12). ويكون المرض وراثياً بنسبة 5-10% وتختلف هذه النسبة حسب العمر (أكثر من 35% في من أعمارهن أقل من الثلاثين، وأقل من 1% في سن فوق الثمانين). وتعود معظم حالات سرطان الثدي الموروثة إلى طفرات في *BRCA 1* بنسبة نحو 60% أوفي *BRCA 2* بنسبة نحو 35%، وأقلية صغيرة تعود إلى مرض توسع الشعيرات الرنحي Ataxia Telangiectasia (حاملون)، وإلى متلازمة Li–Fraumeni وغير ذلك من اضطرابات نادرة تعود لاضطرابات الجين الفرداني الأخرى. ويجب الاشتباه بوجود سرطان ثدي موروث إذا كانت البدء في عمر مبكر (تحت سن الأربعين)، أو كانت الإصابة في الثديين ثنائية الجانب، أو ترافق ذلك بسرطان المبيض، أو عند وجود قصة عائلية لسرطان الثدي اوالمبيض.

3.10.14. سرطان عنق الرحم Carcinoma of Cervix:

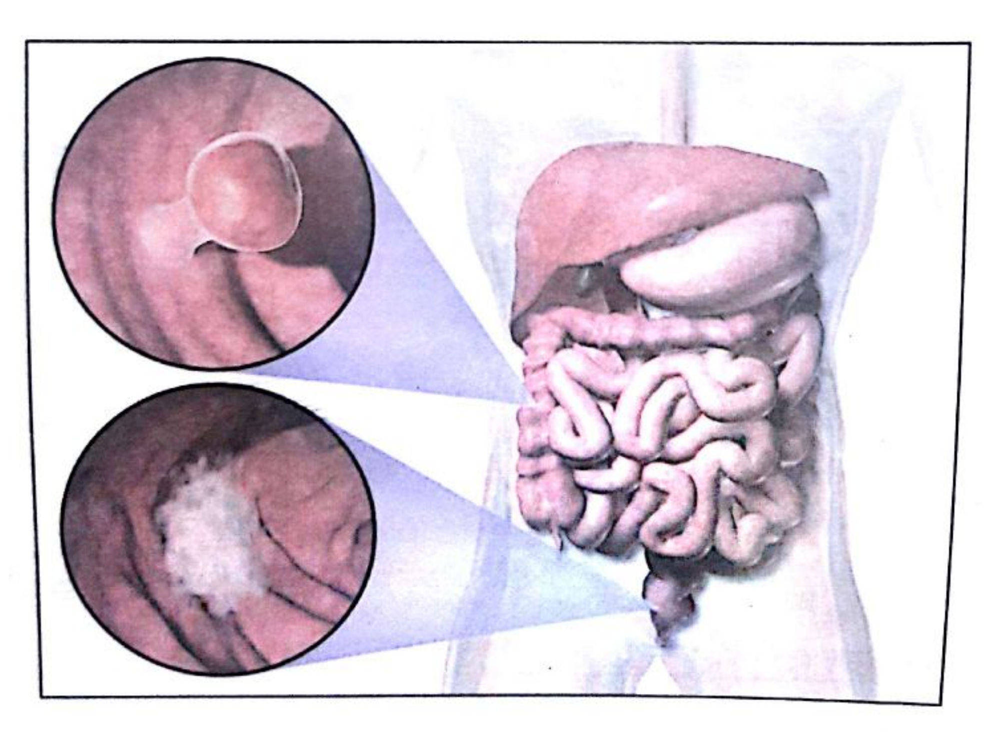
يصيب سرطان عنق الرحم نحو(1%) من النساء، ويبدو أن العوامل الوراثية الوسيطة (خاصة اشتراك بروتينات فيروسات الورم الحليمي PAPILLOMA نمط E6 – E7) هي المحددات الأولية له. ويمكن أن يتضمن ذلك وجود الاستعداد الوراثي عند بعض النساء، إذ إن (88%) من المريضات يملكن المستضد (HLA–DQ–W3) بينما تقدر النسبة العامة بـ (50%). ولا تزداد نسبة خطر الإصابة عند الأقارب على النسبة العامة في المجتمع، وينصح التقصي بإجراء فحص خلوي روتيني لمسحة عنق الرحم للمراقبة.

4.10.14. سرطان المعدة والمريء Carcinoma of Stomach / Esophagus:

يبدو أن العوامل البيئية تؤدي دوراً مهماً في نشوء سرطانة المعدة والمريء، وبناء عليه يكون اختطار الرجعة بالنسبة للأقارب متدنياً. الاستثناء المهم والوحيد لذلك هو اضطراب في جين فرداني إذ يحدث سماكة في جلد راحة اليد، وأخمص القدم (ثفان Tylosis)، ويحدث استعداد لسرطان المريء يورث كخلة جسدية سائدة.

5.10.14. سرطان القولون والمستقيم (Colorectal Cancer):

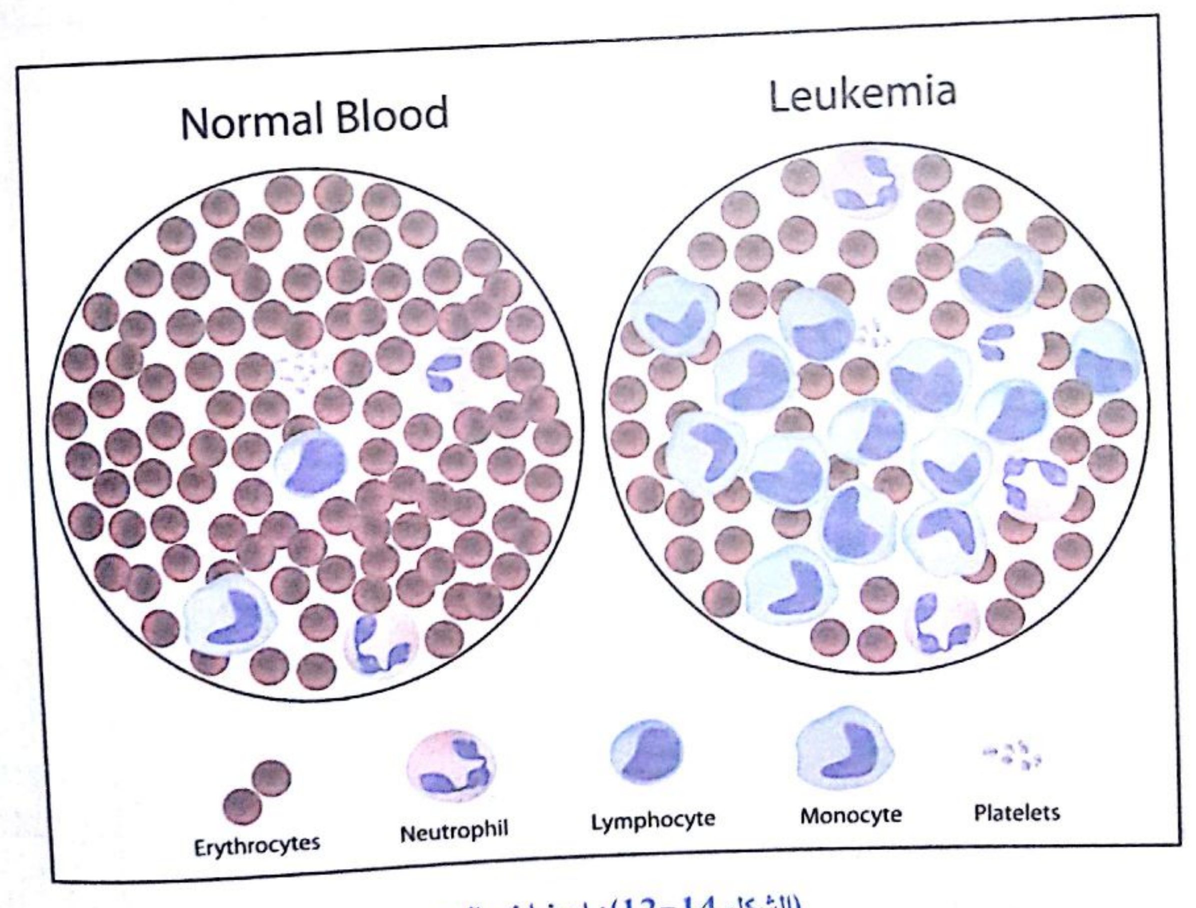
نسبة الخطورة السكانية بالنسبة لسرطان المستقيم والقولون هي واحد لكل خمسين في المملكة المتحدة، والمرض وراثي في 5- 15 ٪. معظم هذه الحالات الوراثية بسبب سرطان القولون بدون داء السلائل الوراثي (Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer: HNPCC)، أما داء السلائل المعوي، فمسؤول عن أقل من 1 ٪. يمكن توقع سرطان القولون الوراثي إذا أظهر المرض عدم ثبات الساتل الصّغري Microsatellite instability وهو مؤشر مميز لـ HNPCC، وإذا وجدت سلائل متعددة، وكذلك إذا كان بدء المرض مبكراً، وإذا كان المرض متعدد البؤر Multifocal، وأخيراً إذا كان هناك قصة عائلية بوجود سرطان قولون أو مستقيم أو سرطانات تتعلق بها. إذا لم تتوفر معلومات عن المُستلفت Proband عندها تكون نسبة الخطورة واحد إلى 17 عند الأقارب من الدرجة الأولى، وترتفع هذه النسبة إلى واحداً من عشرة إذا كان المُستلفت تحت 45 عاماً من العمر عند وقت مراجعته بالمرض. إذا أصيب قريب من الدرجة الأولى أو من الدرجة الثانية، تكون نسبة الخطورة واحد من 12، ولكن إذا أصيب اثنان من الأقارب من الدرجة الأولى تصبح نسبة الخطورة واحداً من ستة **(الشكل 14-11)**.



(الشكل 14-11): سرطان الكولون والمستقيم.

6.10.14. ابيضاض الدم (Leukemia):

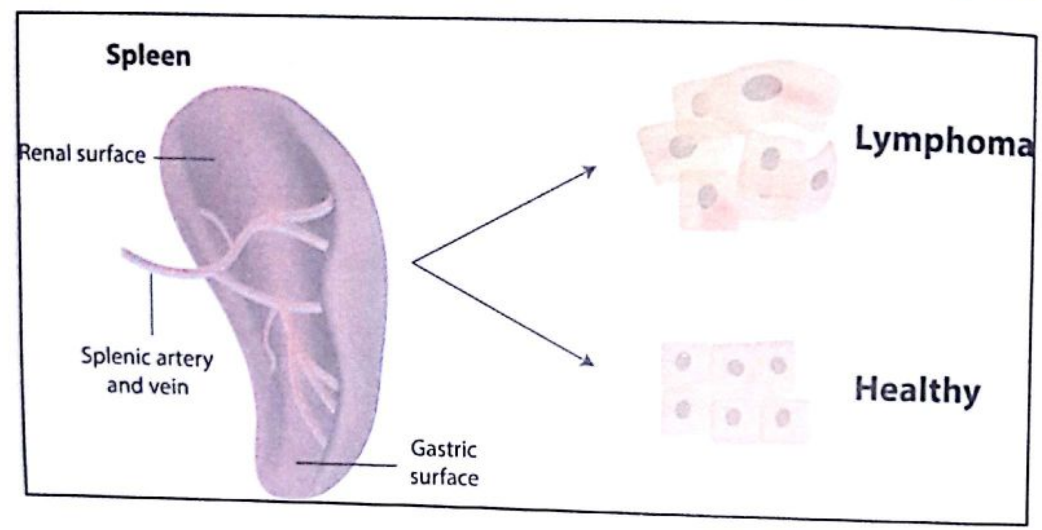
اختلفت النسب المقدرة في ابيضاضات الدم التي لها عنصر وراثي من صفر إلى 25 ٪. تبلغ نسبة التوافق في التوائم أحادية الزيجوت 25٪، ولكن يجب قبول ذلك بشيء من التحفظ، إذ إن التوافق نادر بعد سن الخامسة، وتميل التوائم أن تصاب خلال أسابيع إلى أشهر بين بعضها بعضاً، وهم عادة ما يتشاركون في الشذوذات الوراثية الخلوية، مما يوحي باحتمال الانتقال التصالبي Cross transfusion نسيلة خبيثة فردانية من خلال دوران المشيمة المشترك. نسبة الخطورة بالنسبة للأشقاء في الابيضاضات الدموية في مرحلة الطفولة من ضعفين إلى أربعة أضعاف نسبتها في عموم السكان، ولكن الخطورة المطلقة منخفضة تحت هذه الظروف (1 من كل 100-300)، بجانب ذلك، فإن بعض اضطرابات الصبغيات (مثل، تثلث الصبغي 21)، واضطرابات الجين الفرداني (مثل، متلازمة بلوم Bloom، ومتلازمة فانكوني)، تظهر زيادة خطورة حدوث ابيضاضات الدم الحادة (**الشكل 14-12**).



(**الشكل 14-12**): ابيضاض الدم.

7.10.14. اللمفومة (الورم اللمفي) (Lymphoma):

لقد قدرت خطورة إصابة قريب مريض مصاب بداء هودجكن بنحو سبعة أضعاف إذا قورنت بعامة السكان التي لها نفس الأعمار، وتكون تحت عمر 45 سنة، ولكن لا تزداد الخطورة في الأعمار الأكبر من ذلك. بينت تحاليل الأشقاء، زيادة إحصائية معتبرة بالنسبة للمشاركة في الزمر النسجية HLA، مما يوحي بمشاركة في هذا الموضع من الاستعداد الوراثي (**الشكل 14-13**).



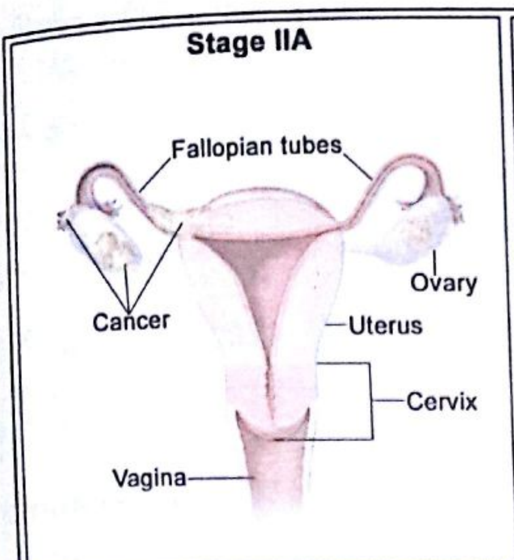
(الشكل 14-13): اللمفومة (الورم اللمفي).

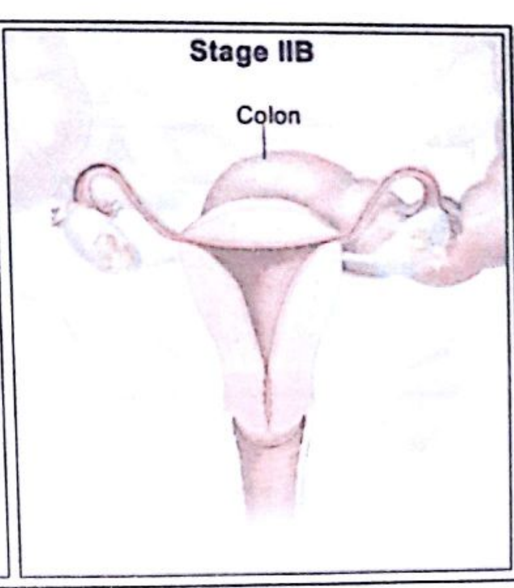
8.10.14. الساركومة العظمية (Osteosarcoma):

تعدّ الساركومة العظمية ورماً نادراً، وعادة ما يشاهد فُرادياً Sporadic وخطورة الوقوع في الأقارب قليلة. تكون نسبة الخطورة أعلى في المصابين بالورم الأرومي الشبكي (Retinoblastoma)، ومرضى العرن (Exostosis).

9.10.14. سرطان المبيض (Ovarian Cancer):

خطورة حدوث سرطان المبيض على مدى عمر الأنثى هو واحد لكل 50-100 في أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية، والمرض وراثي في 5-10٪ من الحالات. تسبب الطفرات في الجين *BRCA 1* (سرطان الثدي الوراثي النمط 1)، نحو 50-35٪ من سرطان المبيض الوراثي، ولابد للاشتباه بهذا السبب والأسباب الوراثية الأخرى، إذا كان بدء تكون الورم في الأعمار المبكرة (تحت 50 سنة من العمر)، أو إذا كان الورم في كلا الطرفين، أو إذا وجدت قصة عائلية لوجود سرطان المبيض أو الثدي (**الشكل 14-14**).

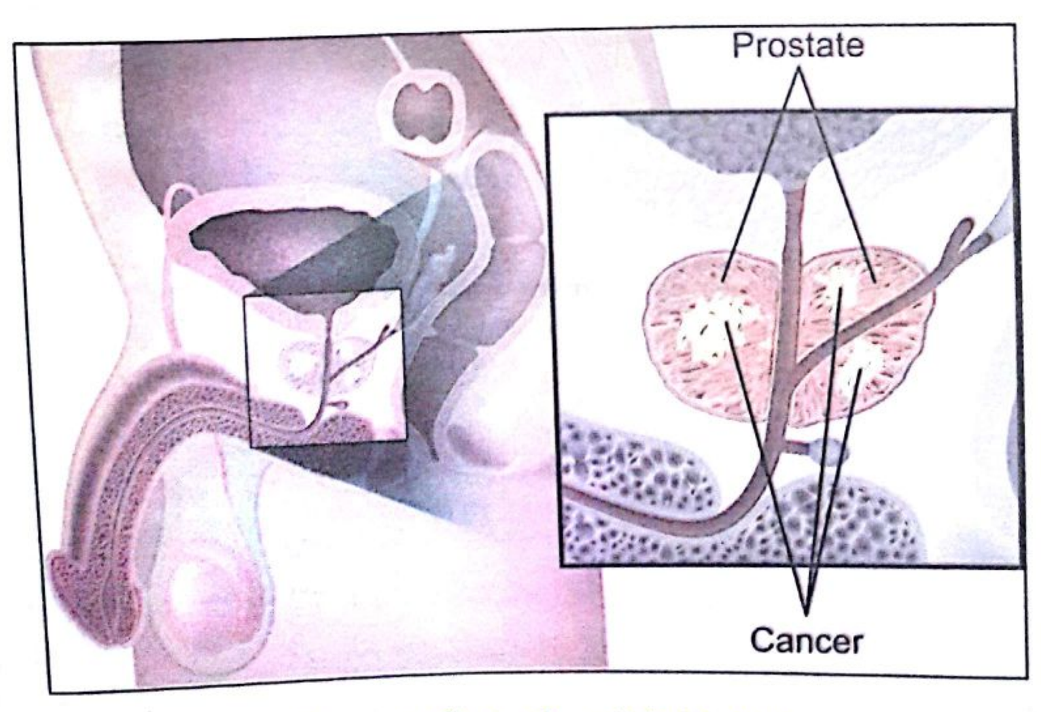




(الشكل 14-14): سرطان المبيض.

10.10.14. سرطان الموثة (البروستاتة) (Prostatic Cancer):

يعتبر سرطان البروستاتة الخباثة الأكثر شيوعاً عند الذكور، ونسبة خطورة الوقوع في مدى **حياة الرجل** هي واحد لكل 11 في الولايات المتحدة الأمريكية. تزداد الخطورة بالنسبة للأقارب من الدرجة **الأولى بواقع** 3-11 ضعفاً (الشكل 14-15).



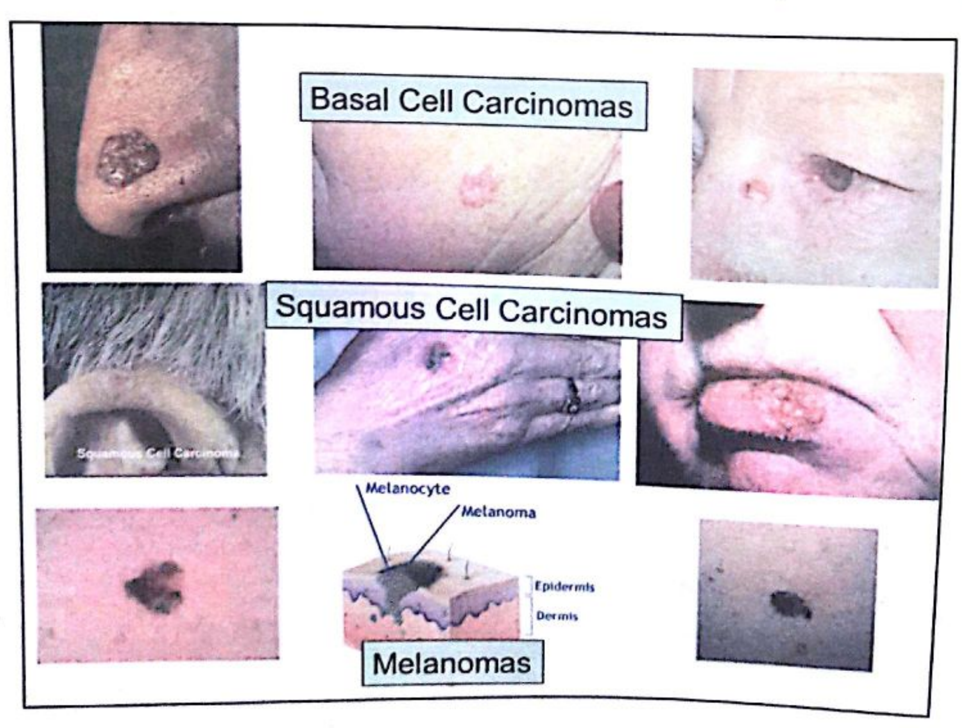
(الشكل 14-15): سرطان الموثة (البروستاتة).

11.10.14. سرطانة الخلية الكلوية (Renal Cell Carcinoma):

سرطانة الخلية الكلوية غير شائعة، ونحو واحد بالمئة تورث كخلة سائدة جسدية (التي قد تكون المظهر الوحيد، أو قد تكون جزءً أساسياً من داء فون هيبل–ليدو Von Hippel–Lindau Disease.

12.10.14 . سرطان الجلد (Skin Cancer):

يمكن لاضطرابات الجين الفرداني أن تسبب أي واحد من الأنماط الثلاثة الرئيسية لسرطان الجلد. بالرغم من أن الأسباب البيئية بشكل عام أكثر أهمية. خمسة إلى عشرة بالمئة من الميلانوم الخبيث يكون وراثياً كخلة سائدة جسدية (الميلانوم الخبيث اللانمطي العائلي)، بالنسبة لسرطانة الخلية القاعدية Basal Cell Carcinoma فقد تكون بسبب متلازمة سرطانة الخلية القاعدية الوَحمانية Nevoid Basal Carcinoma Syndrome، أو بسبب جفاف الجلد الصباغي Xeroderma Pigmentosum، في حين قد يكون سبب سرطانة الخلية الحرشفية Squamous Cell Carcinoma فقر دم فانكوني، أو جفاف الجلد الصباغي، ومتلازمة الورم الظهاري الحرشفي الذاتي الشفاء المتعدد Multiple Self–Healing Squamous Epithelioma Syndrome (الشكل 16–15).



(الشكل 14–16): سرطان الجلد.

13.10.14. سرطان الخصية (Testicular Cancer):

تزداد نسب الخطورة بالنسبة للأشقاء الذكور 8 أضعاف، وبالنسبة للأولاد أربعة أضعاف. تميل الحالات العائلية أن تكون بداية التشخيص في سن مبكرة، وزيادة نسبة خطورة ظهور الورم ثنائي الجانب، كما تظهر تلك الحالات وراثة سائدة جسدية مع اقتصارها على الذكور.

14.10.14. سرطان الدرق (Thyroid Cancer):

ينقسم سرطان الدرق نسيجياً إلى النوع الحُليمي Papillary، والنوع الجريبي Follicular وأنماط أخرى مختلفة تشمل الأورام اللبية. يترافق هذا النوع اللبي مع أورام غدية صماوية متعددة، ولكن بالنسبة للأنماط غير اللبية، فإن الخطورة العامة تزداد خمسة أضعاف (بالمقارنة مع الانتشار في عامة السكان وهي 7/100000 في الذكور و9/100000 في الإناث).

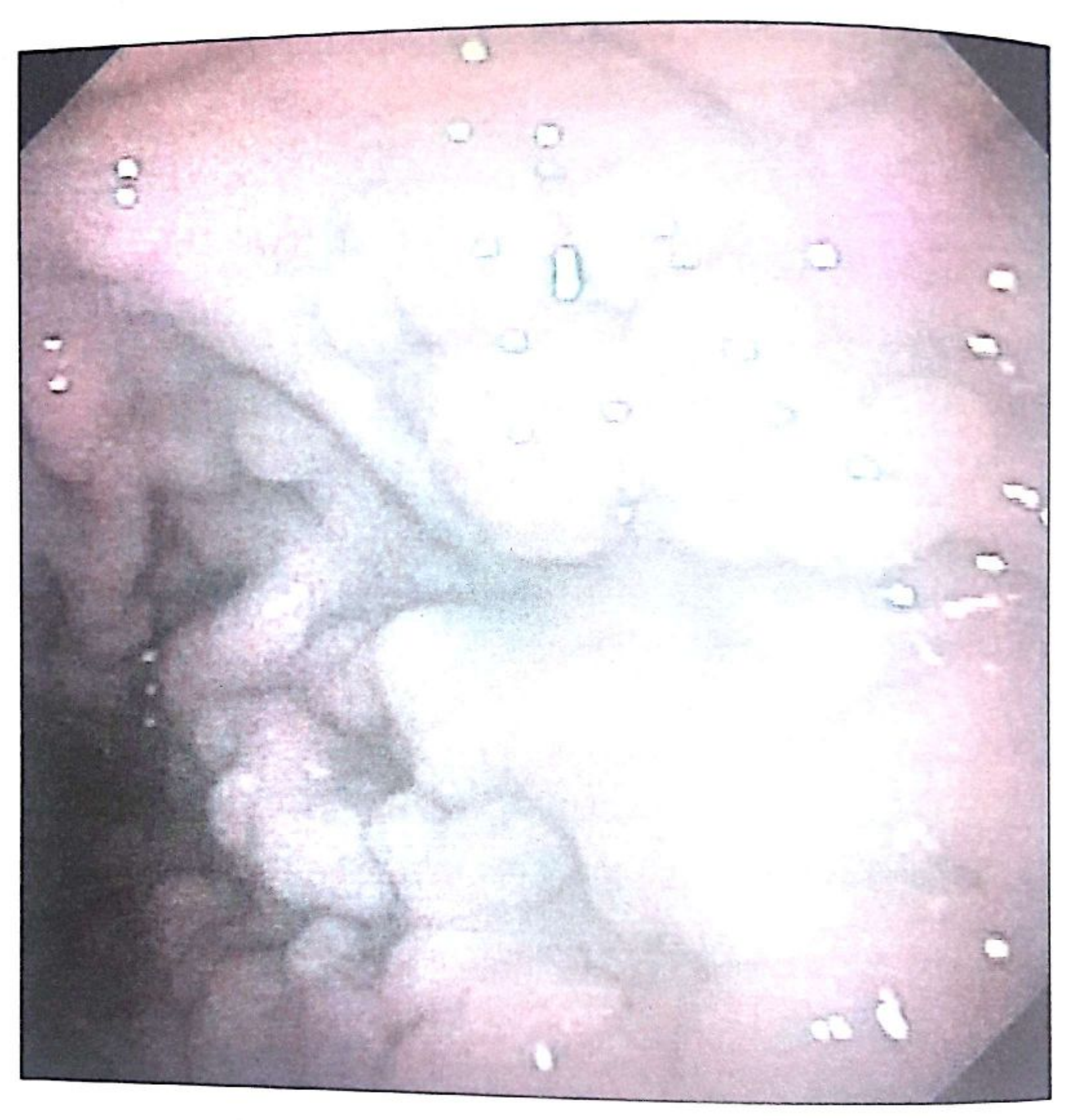
15.10.14. داء السلائل الغدومي العائلي (داء السلائل القولونية، متلازمة جاردنر) (Gardner Syndrome، Polyposis Coli،Familial Adenosis Polyposis; FAP)

يوجد الكثير من السلائل المعوية (أكثر من 100 وخاصة في القولون)، منذ الطفولة، كما يوجد فرط تنسج ولادي للظهارة الصباغية الشبكية (CHRPE في 80٪ من العائلات)، ويوجد أيضاً كيسات بشروية Epidermoid cysts في ثلثي الحالات، ولاسيما في فروة الرأس، وأخيرا توجد أورام عظمية (Osteomas) على الفك (90٪ من الحالات).

تحدث استحالة خبيثة في سلائل المستقيم/قولون 100٪، مما قد يستدعي إجراء الجراحة الوقائية. زيادة الخطورة من حدوث السرطان في الجهاز المعدي المعوي العُلوي تصل إلى 2٪.

يورث داء السليلات القولونية العائلية كخلة سائدة جسدية، وتسببها طفرات في الجين الكابت لورم داء السلائل الغدومية القولونية. يوجد الكثير من الطفرات، ولكن عادة ما تؤدي إلى قطع البروتين Protein truncation مع خبن (AAAGA،5bp) عند النوكليوتيدات 3927-4931، ويحدث ذلك في 10 ٪ من جميع الطفرات. تكون درجة الانتفاذ (Penetrance) عالية (لتكون تامة تقريباً عند سن الأربعين)، ولكن توجد بعض الاختلافات في العائلات بالنسبة لسن بدء المرض. يمكن كشف الحالات قبل ظهور

الأعراض بإظهار (CHRPEs) في العائلات التي تظهر هذه الملامح، وكذلك بتحاليل الدنا. يحتاج الحاملون للجين إلى تنظير هضمي سفلي دوري، ويجب وضع الجراحة الوقائية في الاعتبار. تردد هذا المرض واحد لكل ثمانية آلاف (الشكل 14-17).



(الشكل 14-17) : داء السلائل الغدومي العائلي (داء السلائل القولونية، متلازمة جاردنر).

16.10.14. الميلانوم الخبيث اللانمطي العائلي (Familial Atypical Malignant Melanoma; FAMM):

يوجد وحمات مصطبغة مختلة التنسّج Dysplastic ومتعددة، مع زيادة الخطورة من التحول إلى الميلانوم الخبيث (الشكل 14-16).

يورث كخلة سائدة جسدية، مع بعض البراهين التي توحي بتغاير وراثي (Genetic Heterogeneity).

17.10.14. متلازمة فانكوني (Fanconi syndrome):

يحدث نقص شامل لكريات الدم (Pancytopenia) وتكون مترقية من 5-10 سنوات، كما توجد تصبغات جلدية، وتشوهات ولادية (وخاصة عيوب في الأطراف)، وقصر القامة. هناك تحسس فوق العادة للمواد المحدثة للترابط التصالبي للدنا DNA Cross-Linking Agents مثل Mitomycin C وكذلك انفصام الصبغي المحرض بالدايبوكسي بيوتان Diboxybutane-Induced Chromosome Breakage يسبب زيادة اختطار حدوث ابيضاض الدم غير اللمفاوي الحاد 5-10٪، وكذلك سرطانة الخلية القاعدية، وسرطانة الخلايا الحرشفية. تورث كخلة متنحية جسدية، مع تغاير وراثي. يمكن التشخيص قبل الولادي بتحليل الدنا، أودراسات انفصام الصبغيات.

18.10.14. سرطان القولون الوراثي غير السلائلي (متضمناً متلازمات لينش I & II)

Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer (HNPCC، Including Lynch Syndromes I & II)

تعتبر الأورام القولونية المستقيمية هى الأكثر شيوعاً 60٪ وتميل إلى الوجود في الجانب الأيمن (65٪ بالمقارنة مع 25% أورام فرادية). من أنماط الأورام الشائعة الأخرى، يمكن تعداد أورام بطانة الرحم، وسرطان الثدي، والمعدة، والبنكرياس. أما الأنماط الأقل شيوعاً من عائلات سرطان القولون الوراثي غير السلائلي (HNPCC) فتشمل سرطان المبيض أوالكلية، وأورام الدماغ.

تظهر حالات (HNPCC) تغايراً وراثياً يمكن أن تسببه طفرات في أربعة مواضع جينية (*MSH2*، 60%، *MLH1*، 30%، *PMS1*، *PMS2 – Al*) & كل منها يبدي وراثة سائدة جسدية مع نفاذ غير تام 75-90٪ ولاسيما عند النساء.

تظهر الأورام القولونية المستقيمية في الأفراد المصابين عدم استقرار للتوابع الصغرية، وتظهر على وجه العموم 10-15٪ من هذه الأورام عدم الاستقرار هذا (الكثير منها بسبب HNPCC، وبعض منها بسبب طفرات جسدية). يمكن التعرف على الحاملين للجين الطافر بوساطة تحاليل الدنا، ويجرى لمن يحمل الجين الطافر تنظير قولون دوري. يعتقد أن الشيوع المشترك لطفرات جين (HNPCC) هي واحد لكل مئتين من مجموع السكان.

19.10.14. النمط 1 من سرطان الثدي الوراثي (Inherited breast cancer type 1)

يلاحظ وجود تجمعات عائلية لسرطان الثدى أوسرطان المبيض، تظهر الإناث الحاملات لطفرات الجين *BRCA 1* خطورة عالية لكل من الثدي (50٪ عند الوصول إلى عمر 50 سنة، و80٪ عند عمر 70 سنة)، أما بالنسبة لسرطان المبيض (23 ٪ عند عمر 50 سنة، و63٪ عند عمر 70 سنة). يكون لدى الحاملين للجين الطافر *BRCA 1* زيادة اختطار حدوث وقوع السرطان القولوني المستقيمي، وسرطان البروستاتة.

يورث سرطان الثدي الوراثي من النمط 1 كخلة سائدة جسدية، وتسببه مجموعة مختلفة من الطفرات (التي عادة ما تؤدي إلى فقد الوظيفة). يمكن الكشف عن حاملي الجين فيما قبل ظهور الأعراض باستعمال تحاليل الدنا، ثم يعرض الحاملون للفحص الاستقصائي الدوري. يبلغ المجموع الكلي لسرطان الثدي الوراثي من النمط 1 نحو60٪ من كل أنواع سرطان الثدي الوراثي (نحو80٪ من العائلات التي لديها سرطان ثدي وسرطان مبيض، و45٪ من العائلات التي لديها سرطان ثدي فقط)، كما يوجد لدى واحد لكل 200-500 من السكان طفرة في *BRCA1*.

20.10.14. النمط 2 من سرطان الثدي الوراثي

(*BRCA 2* Inherited breast cancer type II)

يلحظ وجود تجمعات عائلية لسرطان الثدي لدى الحاملين لطفرات الجين *BRCA 2* خطورة مرتفعة لسرطان الثدي في كل من الإناث (80٪ عند سن السبعين)، والذكور (5٪ عند سن السبعين).

يورث سرطان الثدي الوراثي النمط 2 كخلة سائدة جسدية، ويسببه عدد مختلف من الطفرات في *BRCA 2*. يمكن الكشف عن الحاملين اللاعرضيين بتحليل الدنا، وينصح بإجراء التقصي الدوري عن الورم. يشكل سرطان الثدي الوراثي من النمط 2، 35٪ من سرطانات الثدي الوراثية، ولكنه لا يشاهد في العائلات التي لديها سرطان ثدي وسرطان مبيض معاً.

21.10.14. متلازمة سرطانة الخلية القاعدية الوحمانية

Naevoid basal cell carcinoma syndrome (Gorlin-Goltz syndrome):

تظهر حول وقت البلوغ وحمات جلدية (حطاطات Papules قرنفلية أو بنية)، وكذلك سرطانات متعددة للخلية القاعدية Basal cell carcinoma ويكون بدء الظهور في سن مبكرة 75٪، وتظهر أيضاً كيسات قرنية Keratocysts من منشأ سني في الفك، وبشكل راجع 85٪، كما توجد وهدات Pits على راحة الكف وأخمص القدم 65٪، يوجد أيضاً فرط تباعد المفارق Hypertelorism وبروز العظام الجبهية والجدارية للجمجمة.

تزداد الخطورة من حدوث ورم الأرومة النخاعية Medulloblastoma لدى المرضى، وهم حساسون أكثر من اللزوم تجاه الإشعاعات. تسبب هذه الحالة طفرات في جين اللطخة البشرية Human patched gene، تورث الحالة كخلة سائدة جسدية مع انتفاذ مرتفع 97 ٪، ولكن يحدث تعبير مختلف جداً. تكون نسبة التردد واحد في كل 57000، وهذه المتلازمة مسؤولة عن واحد لكل 200 مريض مصاب بواحد أو أكثر من سرطانات الخلية القاعدية (الشكل 14-16).

22.10.14. الورم الأرومي العصبي (Neuroblastoma):

يشاهد ككتلة في البطن أثناء مرحلة الطفولة. يختلف الانذار حسب التصنيف المرحلي للمرض. يكون المرض فرادياً على الغالب مع وراثة سائدة جسدية تكون واضحة في أقل من 1 ٪. الخطورة المحسوبة بالخبرة العملية بالنسبة للأشقاء أو النسل في غياب قصة عائلية تكون أقل من 6 ٪. يمكن التقصي الباكر، وذلك عن طريق مقايسة الكاتيكولامين في البول بشكل دوري منذ الولادة حتى سن السادسة من العمر.

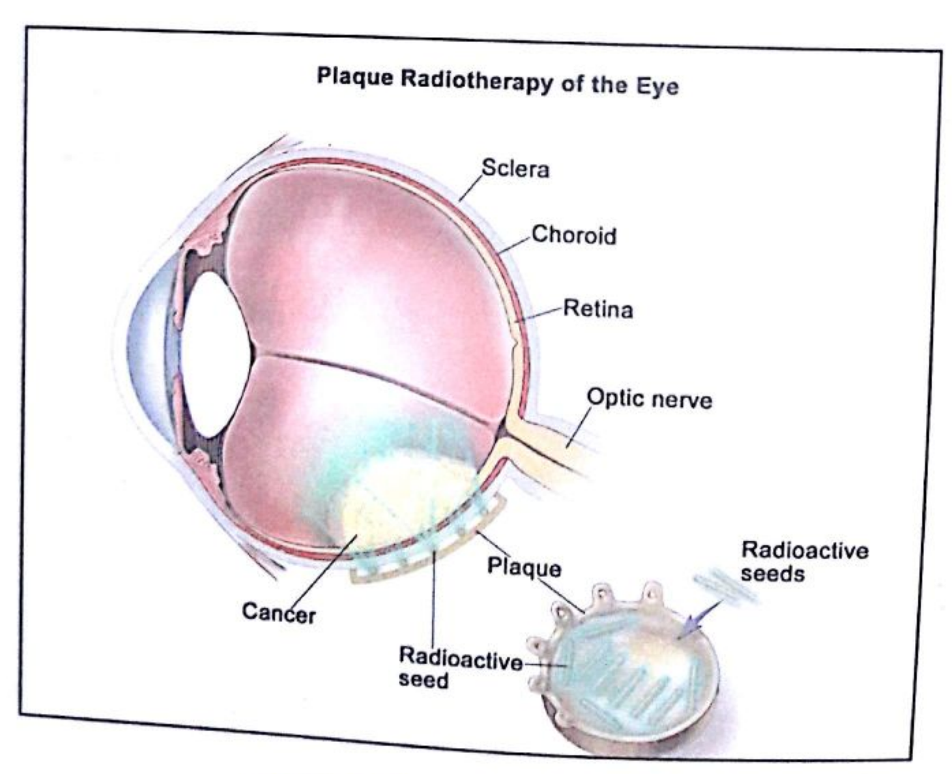
23.10.14. الورم الشبكي الأرومي (Retinoblastoma):

يكون البدء عادة في السنوات الخمس الأولى من العمر، مع وجود منعكس عين القطة البيضاء (White cat's eye reflex)، أوحول، 20-30٪ مزدوج الجانب، ويميل إلى الحدوث مبكراً (الشكل14-18).

يتم شفاء 90٪ من المرضى إذا كان أحادي الجانب وصغيراً. في الحالات الوراثية، يتكون لدى 30-20٪ منهم، زيادة على ذلك، ورم أولي، خاصة ساركومة عظمية أثناء الطفولة Osteosarcoma أو ميلانوم، أو سرطان المثانة، أو الرئة أو البنكرياس وذلك عند البالغ.

يحدث بتواتر واحد لكل 18000-20000 ولادة. الحالات العائلية (التي تشمل كل الحالات مزدوجة الجانب و15 ٪ من الحالات أحادية الجانب) تورث كخلة سائدة جسدية مع انتفاذ مقداره 90 ٪، وتسببها مجموعة مختلفة من الطفرات في الجين الكابت للورم RB1.

يمكن تشخيصه قبل الولادة، وقبل ظهور الأعراض ممكن بوساطة تحاليل الدنا، في الحالات العائلية. لكن الحالة أحادية الجانب الفرادية، تكون الخطورة بالنسبة للأشقاء 0.8٪ وبالنسبة للنسل 7.5٪، وهؤلاء الأطفال لا بد أن يخضعوا لتنظير العين دورياً. من النادر أن يحدث تراجع للحالة تلقائياً تاركاً ندبة في الشبكية، ولا بد من فصل هذه الحالة من الحالات التي تبدو معزولة بتقييم فحص العين عند الوالدين. في حالة الوالدين الطبيعيين لابن لديه المرض مزدوج الجانب، تكون نسبة الخطورة للأشقاء 5%.



(الشكل 14-18): الورم الشبكي الأرومي.

24.10.14. ورم ويلمز (الورم الأرومي الكلوي) (Wilms Tumor (Nephroblastoma:

عادة ما يشاهد في الطفولة الباكرة ككتلة كلوية يكون لها شكل نسجي مميز، إنذاره مختلف، ويعتمد على التأخر في وضع التشخيص. 5-10٪ من الحالات تكون ثنائية الجانب.

يكون التواتر واحداً لكل 10000، وتكون غالباً حالات فرادية، 1٪ منها عائلي (سائد جسدي) غالباً ما يكون ثنائي الجانب. قد تترافق مع خبن صغري Microdeletion في الموضع 13p11، وبعض هؤلاء المرضى لديهم غياب القزحية في الوقت نفسه، وكذلك تشوهات في السبيل البولي التناسلي، وإعاقة في النموالعقلي والجسدي (متلازمة واجر) (WAGR Syndrome) يُظهر 30٪ من الأورام فقد تغاير الزيجوت بالنسبة للذراع القصير للصبغي 11 (11p)، وفي هذه الحالات يحدث فقد انتقائي 90٪ للأليل الأمومي. وما يثير الدهشة ألا تظهر الحالات العائلية أي دلائل على الارتباط ب (11p).

25.10.14. جفاف الجلد الصباغي (Xeroderma Pigmentosum):

هوعبارة عن عيب فى قطع الدنا وتصحيحه بعد التعرض للأشعة فوق البنفسجية. يؤدي إلى حدوث سرطانات جلدية متعددة، وتندبات قرنية. يوجد على الأقل تسعة أنماط فرعية، كل واحدة تورث كخلة متنحية جسدية. التشخيص قبل الولادي ممكن بمقايسة قدرة الدنا على الإصلاح (DNA Repair Assay) بوساطة تحليل الدنا غير المباشر. نسبة التواتر المشترك واحد لكل 70 ألفا.

الفصل الخامس عشر
الوراثة السكانية البشرية
Human Population Genetics

المحتويات Contents

السُكان أوالجمهرة (Population) هم مجموعة من الأفراد ينتمون لنفس النوع (Species) ويعيشون في منطقة جغرافية معينة ويتزاوجون فيما بينهم. يبدي الأفراد ضمن المجموعة السكانية اخْتِلافاً وِراثياً (Genetic variation) على الرغم من التقارب الكبير بينهم على مستوى النمط الظاهري. وتعد طريقة مقارنة التسلسلات الجينية بين الأفراد هي أفضل طريقة لمعرفة الاختلافات الوراثية ما بين الأفراد. لقد وُجِدت التغيرات الجينية في المناطق المُرَمِّزة وتلك غير المُرَمِّزة. أي يمكننا أن نجد عدة أنماطٍ جينية في مجتمع سكاني وربما عدداً أقل منها من الأنماط الظاهرية. والسؤال الذي يطرح نفسه، ما عدد الأنماط الجينية في مجتمع ما؟ وما هي نسبة انتشارها؟ وهل يتم انتشارها بشكلٍ عشوائي؟ وما العوامل المؤثرة في هذه الأنماط الجينية؟

تعتمد الوراثة السكانية على علم الحساب وتتأثر بحجم المجتمع والهجرة وحدوث التزاوج العشوائي وطريقة انتقال الألائل من جيل إلى الذي يليه.

1.15. الألائل والأنماط الجينية

إن نظام الأليلين والموقع الواحد هي الطريقة الأبسط لشرح مبادئ الوراثة السكانية. نفرض أن موضعاً جينياً اسمه A يملك أليلين A_1 وA_2. لتحديد التركيب الجيني لمجموعة بشرية يتم مسح عددٍ كبيرٍ من الأفراد ثم تُسجل تكرارات الأنماط الجينية: A_1A_1 وA_1A_2 وA_2A_2. ولنفرض أن التكرارات المسجلة للأنماط الجينية السابقة هي 0.40 للنمط A_1A_1 و0.40 للنمط A_1A_2 و0.20 للنمط A_2A_2، نلحظ أن مجموع التكرارات للموقع A تساوي 1، لأن هذه التكرارات تمثل كل البنى الثنائية الممكنة للموقع A. يمكن أن نحدد تكرار الأليل A_1 والأليل A_2 من تكرار الأنماط الجينية. مثلاً تكرار الأليل A_1 يساوي تكرار النمط الجيني A_1A_1 مضافاً إليه نصف تكرار النمط الجيني A_1A_2. ولأن كل فرد يملك أليلين لذا فإن تكرار الأليل A_1 هو ضعف تكرار النمط الجيني A_1A_1 مضافاً إليه تكرار النمط الجيني A_1A_2 مقسوماً على 2:

$$\frac{2f(A1A1)+f(A1A2)}{2}$$

تَرمز f للتكرار (frequency).

ويمكن أن نبسّط المعادلة لتصبح: تكرار الأليل A_1: $f(A1A1) + \frac{1}{2}f(A1A2)$

وحسب مثالنا فإن تكرار A_1 هو: $A1 = 0.40 + 1/2(0.40) = 0.60$

أما تكرار A_2 فهو 1 مطروحاً منه قيمة تكرار A_1، أي: $0.40 = 0.60 - 1$. ويمكن أن تحسب تكرارية A_2 مباشرةً كما حسبناها بالنسبة للأليل A_1 كمايلي: $0.20 + 1/2(0.40) = 0.40$

إذا ما كانت العينة مكونة من 400 فردٍ نمطهم الجيني A_1A_1 ومن 400 فردٍ نمطهم الجيني A_1A_2 ومن 200 فردٍ نمطهم الجيني A_2A_2 عندها تحسب تكرار الأليل A_1 كما يلي:

$$A1 = \frac{(400 \times 2) + 400}{1000 \times 2} = 0.60$$

ويحسب تكرار الأليل A_2 كما يلي:

$$A2 = \frac{(200 \times 2) + 400}{1000 \times 2} = 0.40$$

يضرب عدد الأفراد متماثلي الألائل (A_1A_1 أو A_2A_2) في البسط بـ 2 لأن كل واحدٍ منهم يملك أليلين في الموقع نفسه. وفي المقام يضرب العدد الكلي للأفراد بـ 2 لأن عدد الألائل في الموقع A هو ضعف عدد الأفراد.

إذا كانت الأنماط الجينية الوحيدة الموجودة هي: A_1A_1، A_1A_2، A_1A_3، A_2A_2، وكانت تكراريتها بالترتيب هي: 0.5، 0.2، 0.2، 0.1، عندها تحسب تكرار الألائل كما يلي:

$A1 = 0.5 + 1/2(0.2) + 1/2(0.1) = 0.7$ و $A2 = 0.1 + 1/2(0.2) = 0.2$ و $A3 = 1/2(0.2) = 0.1$.

السؤال الذي يطرح نفسه هوماذا سيحل بهذه التكرارات في الجيل التالي؟

يجب أن نأخذ هنا بالحسبان بعض الفرضيات كأن يكون حجم المجموعة السكانية كبيراً. وأن يكون التزاوج في المجتمع متعادلاً، أي لا يوجد تزاوج ما بين أفرادٍ من أجيالٍ مختلفةٍ. وأن لا يكون هناك هجرة إلى أو خارج المجموعة السكانية. وألا يكون هناك طفرة في الألائل في الموقع المدروس. وأن تكون الخصوبةُ متساويةً بين الأفراد. وأن ينتج كل زوجٍ العدد نفسه من الأولاد. لدى الأخذ بكل هذه الشروط نستطيع حساب تكرار الألائل والأنماط الجينية لدى مجموعة سكانية يكون فيه التكرار للأليل A_1 مساوياً لـ0.60 وللأليل A_2 مساوياً لـ 0.40.

عندما يسود أليلان A_1 وA_2 في موقع جيني محدد في مجتمع سكاني ما، سيكون لدينا 9 احتمالات ممكنة للتزاوج في المجتمع نفسه بالنظر إلى الأنماط الجينية **(جدول 15-1)**. يمثل التزاوج ما بين الأفراد الحاملين للنمط الجيني نفسه A_1A_1 وA_1A_1 ما نسبته 0.16 من مجمل عدد حالات الزواج في هذا الجيل المدروس، وهكذا دواليك.

(جدول 15-1) الاحتمالات الممكنة لدى تزوج رجل بامرأة في مجتمع سكاني ما. تُظهر جوانب الجدول تكرار الأنماط الجينية لكل جنسٍ. وأما محتوى الجدول فيُظهر نسبة التزاوج العشوائي ما بين الأفراد الحاملة لأنماط جينية معينة ضمن المجتمع السكاني.

		Females		
		0.40 *A1A1*	0.40 *A1A2*	0.20 *A2A2*
Males	0.40 *A1A1*	0.16	0.16	0.08
	0.40 *A1A2*	0.16	0.16	0.08
	0.20 *A2A2*	0.08	0.08	0.04

يُظهِر (**الجدول 15-2**) تكرار الأنماط الجينية في الجيل الثاني، أي بين ذُريّة (**Offspring**) التزاوجات السابقة الذكر في (**الجدول 15-1**). تعتمد نِسَب الأنماط الجينية في الجيل الثاني على معدل تكرار تزاوج معين في المجتمع في الجيل الذي سبقه (الجيل الأول)، وعلى نِسب ماندل المتوقعة من أجل هذا التزاوج. مثلاً أولاد التزاوج $A_1A_1xA_1A_1$ سيكونون A_1A_1 وتكرار الأولاد الحاملين لهذا النمط الجين في المجتمع سيكون 1.0X0.16 = 0.16. لأن 0.16 هي معدل التزاوج ما بين ذكور وإناث يحملون النمط الجيني A_1A_1.

بينما يُتوقع أن يؤدي التزاوج $A_1A_2xA_1A_2$ لظهور الأنماط الجينية التالية بين الأبناء: A_1A_1 بنسبة 0.25 وA_1A_2 بنسبة 0.50 وA_2A_2 بنسبة 0.25 (وِفق نِسَب ماندل). وبما أن نسبة الزواج $A_1A_2xA_1A_2$ هي 0.16 في المجتمع فإن تكرار النمط الجيني A_1A_1 في المجتمع سيكون 0.25x0.16، وتكرار النمط الجيني A_1A_2 سيكون 0.50x0.16، وتكرار النمط الجيني A_2A_2 سيكون 0.25x0.16. وبِحساب الأنماط الجينية كلها بين الأبناء نجد أن تكرار النمط الجيني A_1A_1 هو 0.36 وأن تكرار النمط الجيني A_1A_2 هو 0.48 وأن تكرار النمط A_2A_2 هو 0.16. هذه التكراريات مختلفة تماماً عن التكراريات في جيل الآباء، إذ كانت التكرارات في جيل الآباء أو الجيل الأول: 0.40 للنمط الجيني A_1A_1، و0.40 للنمط الجيني A_1A_2، و0.20 للنمط الجيني A_2A_2. مع أن تكرار الألائل يبقى على حاله دون تغير وهو

من أجل الأليل A_1: $\frac{1}{2}(0.48)(0.36) = 0.60$

ومن أجل الأليل A_2: $\frac{1}{2}(0.48)(0.16) = 0.40$

(جدول 15-2) تكرارات الأنماط الجينية في نسل التزاوج العشوائي المذكور أعلاه. نلاحظ أن نسب تكرارات الأنماط الجينية: A_1A_1 وA_1A_2 وA_2A_2 لدى الجيل الثاني مختلفةً عن تلك المُشاهدَة في الجيل الأول.

Matings (Male × female)	Frequency of matings	Offspring		
		A1A1	A1A2	A2A2
A1A1 × A1A1	(0.40)(0.40)	0.16		
A1A1 × A1A2	(0.40)(0.40)	0.08	0.08	
A1A1 × A2A2	(0.40)(0.20)		0.08	
A1A2 × A1A1	(0.40)(0.40)	0.08	0.08	
A1A2 × A1A2	(0.40)(0.40)	0.04	0.08	0.04
A1A2 × A2A2	(0.40)(0.20)		0.04	0.04
A2A2 × A1A1	(0.20)(0.40)		0.08	
A2A2 × A1A2	(0.20)(0.40)		0.04	0.04
A2A2 × A2A2	(0.20)(0.20)			0.04
		0.36	0.48	0.16

تُظهر الأرقام في (**الجدول 15-3**) أن تكرار الأنماط الجينية في الجيل الثالث مماثلة لما هي عليه في الجيل الثاني. لا بل أكثر من ذلك، إذا لم تتغير المُتَثابِتات (Parameters) السكانية، فإن تكراريات

الألائل والأنماط الجينية تُحفظ جيلاً بعد جيل. ما الذي حدث للنمط الجيني ولتكرار الألائل في الجيل الثالث؟

تدل ثباتية تكرارات الألائل والأنماط الجينية عبر الأجيال المتعاقبة على وجود حالةٍ متوازنةٍ سُميت في البداية بالتوازن الجيني (**Genetic equilibrium**).

(جدول 15-3): تكرارات الأنماط الجينية في نسل التزاوج العشوائي للجيل الثاني. نلاحظ أن نسب تكرارات الأنماط الجينية: A_1A_1 وA_1A_2 وA_2A_2 لدى الجيل الثالث هي نفسها المُشاهدَة لدى الجيل الثاني.

Matings (Male × female)	Frequency of matings	Offspring		
		A1A1	*A1A2*	*A2A2*
A1A1 × A1A1	(0.36)(0.36)	0.13		
A1A1 × A1A2	(0.36)(0.48)	0.085	0.085	
A1A1 × A2A2	(0.36)(0.16)		0.06	
A1A2 × A1A1	(0.48)(0.36)	0.085	0.085	
A1A2 × A1A2	(0.48)(0.48)	0.06	0.12	0.06
A1A2 × A2A2	(0.48)(0.16)		0.04	0.04
A2A2 × A1A1	(0.16)(0.36)		0.06	
A2A2 × A1A2	(0.16)(0.48)		0.04	0.04
A2A2 × A2A2	(0.16)(0.16)			0.02
		0.36	0.48	0.16

2.15. معادلة هاردي- فاينمبرغ

وَضَّح مبدأ التوازن الجيني في عام 1908 من قبل عالم الرياضيات الإنكليزي Godfrey. Hardy، وعالم الفيزياء الألماني Wilhelm. Weinberg بشكل مستقل أحدهما عن الآخر. وتقديراً لجهودهما سمي التوازن الجيني بتوازن هاردي- فاينمبرغ (Hardy–Weinberg equilibrium) واختصاراً HWE. تبيّن لاحقاً أن عالم الوراثة الأميركي W. E. Castle قد وصف التوازن الجيني في عام 1903، لذا غيّر بعضهم اسم التوازن الجيني ليصبح قانون كاسل-هاردي-فينبرغ (Castle–Hardy–Weinberg law). بحسب قانون HWE فإن تكرار الألائل في مجتمع سكاني لا تتغير مع الزمن.

يستخدم عادةً في نظام موقعٍ واحدٍ وأليلين الحرفان **p** لوصف الأليل السائد (Dominant allele) و**q** لوصف الأليل المتنحي (Recessive allele). هذه هي الحالة الأبسط وفيها يكون مجموع تكرار الأليلين يساوي 1.0. ويتم إنشاء جدول 2x2 لتبيان تكرار الأنماط الجينية، إذ يدل الرمزان p^2 وq^2 على الأنماط الجينية متماثلة الألائل والرمز 2pq على النمط الجيني متخالف الألائل **(جدول 15-4)** تمثل: p^2 وq^2 و2pq كل الأنماط الجينية الممكنة في المجتمع، ويكون مجموعها معاً يساوي 1.0، أي: $q^2 + 2pq + p^2 = 1$. وبما أن $(p+q)^2 = q^2 + 2pq + p^2$ لذا يطلق على قانون التوازن الجيني أحياناً بالقانون التربيعي.

(جدول 15-4) اشتقاق الأنماط الجينية والتكرارات لموقع جيني وحيد بأليلين مختلفين p وq.

		Female gametes	
		A1 (p)	*A2 (q)*
Male gametes	***A1 (p)***	p^2	pq
	A2 (q)	pq	q^2

لنستعن بمثالٍ رقمي لإثبات توازن هاردي- فاينبرغ (**جدول 15-5**) لنفرض أن موضعاً (Locus) على صبغي جسدي يملك أليلين *A* و*a*. تبلغ تكرار هذين الأليلن في مجتمع سكاني: 0.70 للأليل *A* و0.30 للأليل *a*. لدى حصول تزاوج بشكل عشوائي وبحسب معايير قانون HWE فإن الاحتمالات المتوقعة لدى تشكل زيجوت هي:

- احتمال أن تلتقي النطفة الحاملة للأليل *A* مع البيضة الحاملة للأليل *A* هو: 0.7X0.7 = 0.49. وهونفسه تكرار النمط الجيني *AA*.
- احتمال أن تلتقي النطفة الحاملة للأليل *a* مع البيضة الحاملة للأليل *a* هو: 0.3X0.3 = 0.09. وهونفسه تكرار النمط الجيني *aa*.
- احتمال أن تلتقي النطفة الحاملة للأليل *A* مع البيضة الحاملة للأليل *a* هو: 0.7X0.3 = 0.21.
- احتمال أن تلتقي النطفة الحاملة للأليل *a* مع البيضة الحاملة للأليل *A* هو: 0.3X0.7 = 0.21.

ويكون تكرار النمط الجيني *Aa*: 0.42 = 0.21 + 0.21.

نلاحظ أن مجموع تكرارات الأنماط الجينية يساوي 1.

	Sperm fr(*A*) = 0.7	Sperm fr(*a*) = 0.3
Eggs fr(*A*) = 0.7	fr(*AA*) = 0.7 × 0.7 = 0.49	fr(*Aa*) = 0.7 × 0.3 = 0.21
Eggs fr(*a*) = 0.3	fr(*aA*) = 0.3 × 0.7 = 0.21	fr(*aa*) = 0.3 × 0.3 = 0.09

(جدول 15-5) حساب تكرارات الأنماط الجينية في ذُريّة التزاوج عشوائي لجيل الأباء، بناءً على معرفة مسبقة لتكرار الألائل في موضع ما على صبغي جسدي.

لقد بيَّن لنا قانون HWE ثلاث حقائق:

- ليس بالضرورة أن يزيد معدل الخِلّة السائدة من جيل إلى آخر.
- إذا كان المجتمع المدروس مثالياً فإن تكرار الألائل لا تتغير.
- يمكننا حساب تكرار الأنماط الجينية الأخرى إذا عرفنا تكرار أحد الأنماط. يعد هذا الأمر مفيداً في دراسة الاعتلالات الوراثية لدى الإنسان لجهة معرفة نسبة الأفراد متخالفي الألائل لمرض وراثي متنحي.

إنه لمن الأهمية بمكان أن نحدد فيما إذا كان الموضع المدروس في المجموعة السكانية يخضع لتوازن HWE أولا.

من بين الأمثلة الممكنة التي يمكن أن تعد نموذجيةً لدراسة مجموعة سكانية البروتينان M وN المنغمسان في غشاء الكريات الحمراء. يُرمَّز هذان البروتينان من قِبَل جين الغليكوفورين A (*GYPA*) المتوضعة على الذراع الطويل من الصبغي الرابع. الغليكوفورين A هوبروتين سكري. يمثّل البروتينان M وN تنوعين له ويختلف بعضهما عن بعض بحمضين أمينيين. يمكن الكشف عن البروتينين M أوN على غشاء الكريات الحمراء أحدهما أوكليهما معاً باختبار بسيط وذلك إضافة بأضدادٍ إلى عينة دمٍ صغيرة. سُميّ موقع الجين *GYPA* وتم ترميز الأليلان بـ: M وN. توافق الأنماط الجينية: MM، MN، NN ثلاثة أنماط ظاهرية هي: M، MN ، N. أجري مسح لـ 2320 أب وأم من 1160 عائلة مختلفة لتحديد نمط البروتينين MN الموجودين في دمائهم. أظهرت النتائج وجود البروتينات بالنِسَب التالية: M:0.311، MN: 0.492، N: 0.197. وبالتالي

فإن تكرار الأليل M هو: $\frac{1}{2}(0.492) + 0.311 = 0.577$

وتكرار الأليل *N* هو: $1-0.577 = 0.443$

وإذا ما كان المجتمع متوازناً بالنسبة لقانون HWE، عندئذٍ سيكون تكرار الأنماط الجينية بالنسبة للنمط *MM* هو: $0.310 = (0.557)^2$، وبالنسبة للنمط *MN* هو: $0.494 = (0.443)(0.557)2$، وبالنسبة للنمط *NN* هو: $0.196 = (0.443)^2$.

تم إجراء مسحٍ في الدراسة نفسها لـ 2734 طفلاً وتبيّن أن نسب توزع الأنماط الجينية هي: 0.311 للنمط *MM*، و0.493 للنمط *MN*، و0.195 للنمط *NN*، وهي النسب نفسها المشاهدة عند الآباء.

لقد استخدم نظام جين جسدية ذات موقع واحد وبأليلين لشرح قانون HWE. وعلى كل حال توجد قوانين لجينات بعدة ألائل ولألائل مرتبطة بالصبغي X ولمواقع مرتبطة بعضها مع بعض ولمواقع مستقلة.

يُرمّز للألائل في حالة نظام جيني جسدي بثلاثة ألائل بـ: p وq وr. وتصبح المعادلة: $p + q + r = 1$.

وللتنبؤ بتكرار الأنماط الجينية يتم تربيع المعادلة السابقة $(p+q+r)^2$ وفي حال كانت هناك أربعة ألائل تصبح المعادلة: $(p+q+r+s)^2$.

حساب تكرار عدة ألائل لموضع واحد:

لنأخذ مثال الزمر الدموية لدى الإنسان ABO **(جدول 15-6)** لدينا ثلاثة ألائل A وB وO. الأليلان A وB سائدان، والأليل O متنحي. الأنماط الجينية الممكنة لدى الإنسان عددها 6 والأنماط الظاهرية عددها 4:

- الأنماط الجينية AA أو AO تعطي نمطاً ظاهرياً A.
- الأنماط الجينية BB أو BO تعطي نمطاً ظاهرياً B.
- النمط الجيني AB يعطي نمطاً ظاهرياً A.
- النمط الجيني OO يعطي نمطاً ظاهرياً O.

حسب قانون HWE تكتب المعادلة لثلاثة ألائل على النحوالتالي: $p + q + r = 1$.

في حال كان لدينا تكرار الأنماط الظاهرية المُسجّلة في مجتمع سكاني ما هو على التوالي: 0.53 للنمط A، 0.13 للنمط B، 0.26 للنمط O، فما تكرار الألائل المحددة لزمر الدم؟

تُحسب تكرار الألائل الثلاثة حسب قانون HWE وفق المعادلة:

$$(p + q + r)^2 = p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2pq = 1$$

- حساب تكرار الأليل O. يرمز r^2 للزمرة الدموية O. بما أن هذه الزمرة لا تتولد إلا عن أليلين متنحيين، لذا يمكننا حساب تكرار الأليل O في المجتمع السكاني المدروس كما يلي:

$$r^2 = 0.26$$
$$r = \sqrt{0.26}$$
$$r = 0.51$$

- حساب تكرار الأليل A. الزمرة الدموية A هي تعبيرٌ لنمطين جينين: AA وAO. يأخذ تكرار النمط الجيني AA الرمز p^2 وتكرار النمط الجيني AO الرمز 2pr. وبجمع تكرارات الزمرتين A وO نحصل على المعادلة التالية:

$$p^2 + 2pr + r^2 = 0.53 + 0.26$$
$$(p + r)^2 = 0.79$$
$$p + r = \sqrt{0.79}$$
$$p = 0.89 - r$$
$$p = 0.89 - 0.51 = 0.38$$

- لم يبق إلا حساب تكرار الأليل B وذلك وفق المعادلة التالية:

$$p + q + r = 1$$
$$q = 1 - p - r$$
$$1 - 0.51 - 0.38 = 0.11$$

(جدول 15-6) حساب تكرار الأنماط الجينية لموضع بعدة ألائل في مجتمع سكاني حسب متثابتات HWE . مع العلم أن تكرار الأليل *A*: 0.38، والأليل *B*: 0.11، والأليل *O*: 0.51.

النمط الجيني Genotype	تكرار النمط الجيني Genotype Frequency	النمط الظاهري Phenotype	تكرار النمط الظاهري Phenotype Frequency
AA	$p^2 = (0.38)^2 = 0.14$	A	0.53
AO	$2pr = 2(0.38)(0.51) = 0.39$		
BB	$q^2 = (0.11)^2 = 0.01$	B	0.12
AO	$2qr = 2(0.11)(0.51) = 0.11$		
AB	$2pr = 2(0.38)(0.11) = 0.084$	AB	0.08
OO	$r^2 = (0.51)^2 = 0.26$	O	0.26

يُستفاد من تطبيق قانون HWE في تحديد نسبة متخالفي الألائل بالنسبة لخِلةٍ متنحية في مجتمع ما. يعد مرض التَّلَيُّف الكيسِي (Cystic fibrosis) خلةً جسديةً متنحيةً. تبلغ نسبة انتشاره بين سكان أوربا الشمالية أوالمنحدرين منهم 1 من كل 2500. حسب قانون هاردي–فاينمبرغ، وإذا ما افترضنا أن التزاوج كان عشوائياً في الجيل السابق، يمكننا حساب نسبة متخالفي الألائل بين مجموع السكان كما يلي:

تمثل q^2 نسبة المصابين في المجتمع السكاني المدروس وهي هنا 0.0004. ومن ثم فإن تكرار الأليل المتنحي هي الجذر التربيعي للرقم المذكور أعلاه:

$$q = \sqrt{q^2} = \sqrt{0.0004} = 0.02$$

بما أن

$$p + q = 1$$

فإنّ

$$p = 0.98$$

أما نسبة متخالفي الألائل فهي:

$$2pq = 2 \times 0.98 \times 0.02 \approx 0.04$$

نستنتج من ذلك أن نسبة حملة مرض التليُّف الكيسِي أعلى بكثير من المصابين إذ تبلغ 4 من أصل 100 فرد في المجتمع السكاني.

3.15. معادلة هاردي فاينمبرغ بالنسبة للجينات المرتبطة بالصبغي X

تتطلب دراسة التوازن بالنسبة للجينات المرتبطة بالصبغي X متابعةً على مدى عدة أجيال، على عكس الجينات الجسدية التي يكفي جيل واحدٌ لدراستها. سبب هذا الاختلاف هونمط انتقال الصبغي X من جيلٍ

إلى آخر. فالأنثى يمكن أن تكون متماثلة الألائل (A_1A_1 أو A_2A_2) أو متخالفة الألائل (A_1A_2) في نظام جيني ذي أليلين. بينما الذكر قد يملك أحد الأليلين A_1 أو A_2.

لنأخذ مثالاً عمى لوني الأخضر والأحمر الذي يصيب 8% من الذكور. بمعنى آخر 8% من مجمل الصبغيات X يحمل الأليل الطافر، و92% من مجمل الصبغيات X يحمل الأليل السائد الطبيعي بالنسبة لرؤية اللونين الأخضر والأحمر. إذا ما رمزنا للأليل السائد بـ: p، تكراريته تساوي 0.92، وللأليل الطافر بـ: q، تكراريته تساوي 0.08، نستطيع الاستنتاج بأن نسبة إصابة الإناث بعمى الألوان سابق الذكر هي:

$$q^2 = (0.08)^2 = 0.0064$$

وبأن تكرار حملة الأليل الطافر بين الإناث هو:

$$2pq = 2(0.92)(0.08) = 0.147$$

وبمعنى آخر تحمل 14.7% من الإناث الأليل الطافر (عمى اللونين الأخضر والأحمر)، وبإمكانهن نقله إلى أطفالهن بالرغم من عدم معاناتهن من عمى الألوان.

توجد عدة أمراضٍ وراثية متنحية مرتبطة بالصبغي X تكون نسبة انتشارها أعلى عند الذكور منها عند الإناث مثل الحَثَل العضَلِي مِنْ نَمَطِ دوشين(Duchenne musculardystrophy) أو النَّاعور (Hemophilia).

4.15. العوامل المؤثرة في الأنماط الجينية وانتقال الألائل بين الأجيال المتعاقبة

ورد في مواضع عدة المُتَثابِتات أوالشروط التي التقيد بها أو أخذها بعين الاعتبار لدى تطبيق قانون التوازن الجيني (HWE). فما هذه المُتَثابِتات؟

1.4.15. حجم المجموعة السكانية

يؤثر انتقاء العينات في المجموعات السكانية الصغيرة في نتائج تكرار الألائل إذ تصبح مذبذبة، وتتغير من جيل إلى الذي يليه. نسمي هذه الظاهرة بالانسِياق الجينِيّ العَشْوَائِيّ (Random genetic drift). وهو ما لا نلاحظه في حال كان حجم الجموعة السكانية المدروسة كبيراً.

يُقال عن الجين إذا ما فقدت أليلاً ما بعد عدة أجيال أي p أو q يصبح مساوياً 1 أنها أصبحت ثابتة وراثياً (Genetically fixed).

2.4.15. تأثير الأصل

حين يوجد في مجموعة سكانية صغيرة أليل متنحي ونادر فإنه قد يبقى ضمن هذه المجموعة لأجيال متعاقبة إذا ما بقيت هذه المجموعة معزولة جغرافياً أواجتماعياً عن بقية المجموعات المجاورة. وهوما يُطلق عليه تأثير الأصل (Founder Effect). قد تظهر حالات من الأمراض المتنحية النادرة جداً في

هذه المجموعة مقارنةً ببقية المجموعات. مثال: عاشت مجموعة صغيرة في عام 1675 مكونة من 600 فرداً في الشمال الشرقي لمقاطعة كيبك (Quebec) في كندا بشكلٍ معزولٍ عن بقية السكان. بقيت هذه المجموعة بعد 12 جيل معزولة إلى حدٍ ما، وأصبح تعداد أفرادها 310000. لُوحظ لدى أفراد هذه المجموعة ارتفاع نسبة الأمراض المتنحية النادرة جداً مقارنةً ببقية السكان. وزادت أيضاً نسبة الأفراد متخالفي الألائل لهذه الأمراض بمعدل 5% إلى 40% مقارنةً ببقية السكان. نذكر من هذه الأمراض: الدَّاء السِّيسْتينِيّ (Cystinosis)، عوز إنزيم الستوكروم أوكسيداز (Cytochrome coxidase deficiency)، عوز إنزيم الليبوبروتين ليباز (Lipoprotein lipasedeficiency)، فَرْط تيروزين الدم من النمط الأول (Tyrosinemia type I).

3.4.15. الهجرة

تغيّر الهجرة من التراكيب الجينية للسكان، فالمجموعات البشرية نادراً ما تكون معزولة في مكان ما لا تهاجر ولا تستقبل أحداً. يُدعى إدخال تراكيب جينية جديدة في مجموعة بشرية مُستَقبِلَة أنسِياب الجينات (Gene flow). يعتمد انسياب الجينات على حجم المجموعة السكانية المُستَقبِلة، وعلى معدل تَوَالد المهاجرين داخل هذه المجموعة. يمكن أن يُدخِل انسياب الجينات أليلاً جديداً، أويغير من تماثل الألائل في المجموعة السكانية المُستَقبِلة. وقد لا يحدث تغيّر إذا ما كان تكرار الألائل في المجموعتين السكانيتين هو نفسه.

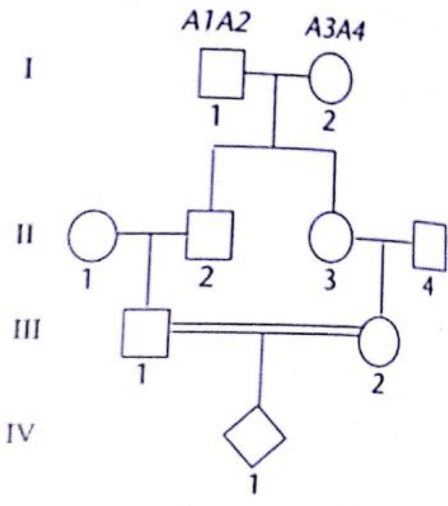
4.4.15. التزاوج (Mating):

للزواج أنواع عدة: فإما أن يحدث بشكلٍ عشوائي بين الذكور والإناث ويسمى بالتَزاوُج اللامُتَلائق (Nonassortative mating). وإما أن يختار الأفراد أزواجهم بناءً على صفاتٍ أو ملامح معينةٍ أو لوجود قربى بينهم، ويُسمى التَزاوُج اللاعَشْوائِيّ (Nonrandom mating) أوالتَزاوُج المُتَلاَئِق (Assortative mating). يقسم التَزاوُج المُتَلائِق إلى نوعين: تَزاوُج مُتَلاَئِق إيجابي أي متماثل يكون فيه الأفراد المتزوجون متماثلي النمط الوراثي. وتَزاوُج مُتَلاَئِق سلبي أي متغاير وهنا يتم اختيار الأزواج بالاعتماد على أنماطٍ وراثيةٍ متضادةٍ. يؤدي التَزاوُج المُتَلاَئِق السلبي لظهور جيلٍ متخالف الألائل، وتناقص معدل الأفراد متماثلي الألائل.

- زَواجُ الأَقارِب (Inbreeding):

عندما نتكلم عن زواج الأقارب نقصد الزواج ما بين أولاد العم أوالخال أوالخالة أوالعمة، على اعتبار أن الزواج بين الأصول والفروع أوبين الأخوة محرمٌ في الشرائع السماوية وغير قانوني في معظم البلدان. يسمى زواج الأقارب من الدرجة الأولى عندما يكون أحد الوالدين لكلا الفردين المقترنين أخاً أو أختاً

للآخر، وهنا يتشارك الفردان المقترنان بالجد. قد يؤدي التشارك بجدٍ إلى ظهور حالة تماثل ألائل عند الحفيد (شكل15-6). يَنقُصُ احتمال تماثل الألائل كلما ابتعد الأفراد المقترنون عن جدهم المشترك. ويعد زواج الأقارب دون تأثيرٍ يذكر على النمط الجيني وتماثل الألائل إذا ما كان الفارق بين الأفراد وجدهم المشترك أربعة أجيال فأكثر.



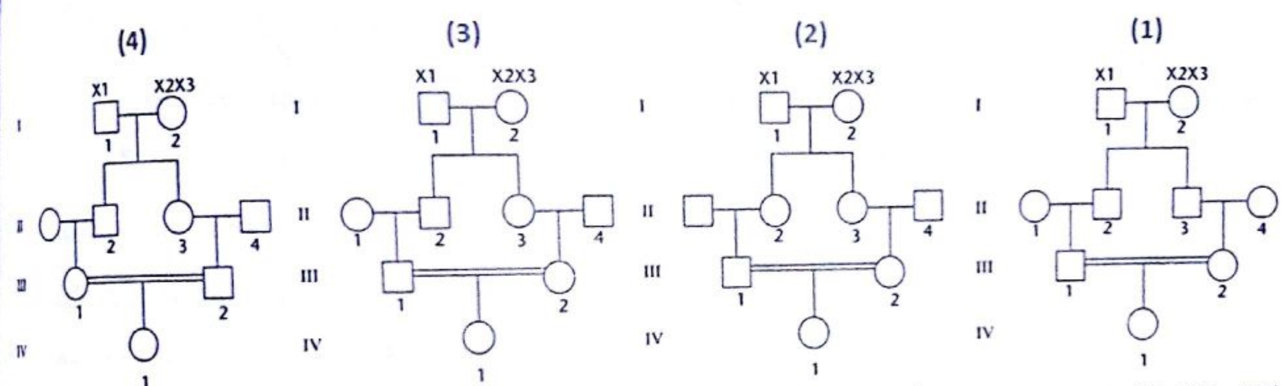
(شكل15-6) يملك الجدَّان في الجيل I نظرياً 4 ألائل جسدية مختلفة لموضع واحد. يمكن أن يحمل الولد-IV 1 أحد الأنماط الجينية التالية: A_1A_1، A_2A_2، A_3A_3، A_4A_4. إن احتمال انتقال الأليل A_1 من الجد إلى الابن II-2 هو $\frac{1}{2}$، واحتمال انتقال الأليل A_1 من الابن II-2 إلى الحفيد III-1هو $\frac{1}{2}$، واحتمال انتقال الأليل A_1 من الحفيد III-1 إلى الولد IV-1 هو $\frac{1}{2}$. كذلك الأمر بالنسبة لانتقال الأليل نفسه من الجد I-1 إلى الابنة3-II وصولاً إلى الولد IV-1هو $\frac{1}{2}$ لكل مرحلة. ومن ثم احتمال أن يرث الولد IV-1 الأليلين A_1A_1 من جده I-1 هو $(\frac{1}{2})^6$. يتم حساب احتمال وراثة الألائل الأخرى بنفس الطريقة. أما احتمال أن يرث الولد IV-1 الألائل الأربعة من الجدين I-1 وI-2 هو: $4 \times (\frac{1}{2})^6 = 0.0625$. إذا كان الأفراد المتزوجون أبناء عم من الدرجة الثالثة يصبح احتمال انتقال أليلين من أحد الجدين المشتركين إلى ابنهم هو $(\frac{1}{2})^{10}$.

فيما يتعلق بوراثة الألائل المتوضعة على الصبغي X من الجد المشترك. لدينا هنا احتمالات عدة:

- **الأولاد المقترنون هم أبناء عم (شكل 15-7) (1):** في هذه الحالة الجد لا يورث أي خلةٍ مرتبطةٍ بالصبغي X. ترث فقط ابنة العم أليلاً واحداً من جدتها. ومن ثم احتمال تماثل الألائل عند الطفل المولود IV-1 غير ممكن.
- **الأفراد المقترنون هم أبناء خالة (شكل 15-7) (2):** في هذه الحالة يمكن للطفل المولود IV-1 أن يكون متماثل الألائل بالنسبة لأي أليل متوضع على الصبغي X1 أوX2 أوX3. احتمال انتقال الأليل المتوضع على الصبغي X1 هو 1 من الجد I-1 إلى ابنتيه II-1 وII-2، ومن البنتين إلى الابن III-1 والابنة III-2 (الزوجين) هو 1 و$\frac{1}{2}$ بالترتيب، ومن الزوجين إلى ابنتهما IV-1 هو 1 و$\frac{1}{2}$. ومن ثم يصبح احتمال ان تكون البنت المولودة IV-1 متماثلة الألائل المتوضعة على الصبغي X1 هو: $(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})(1)(1)(\frac{1}{2})(1)$. بالطريقة نفسها يمكن استنتاج احتمال

أن تكون البنت المولودة IV-1 متماثلة الألائل المتوضعة على الصبغيات X2 وX3 في الجدة I-2 لنجد أنها تساوي: $(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})(1)(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})$.

- إذا تزوجت ابنة العمة من ابن الخال **(شكل 15-7) (3)**: لا يمكن للطفل IV-1 أن يكون متماثل الألائل لأي من الألائل المتوضعة على الصبغيات X الثلاثة.
- إذا تزوج ابن العمة من ابنة الخال **(شكل 15-7) (4)**: لا يمكن للطفل IV-1 أن يكون متماثل الألائل لأي من الألائل المتوضعة على الصبغي X1، ولكن يمكن أن يكون متماثل الألائل المتوضعة على الصبغيين X2 وX3.



(شكل 15-7): احتمالات تماثل الألائل لدى أولاد زواج قرابة أولى.تتوضع الألائل على الصبغي X وهي ثلاثة لدى الأجداد: X1X2 وX3.

نستنتج مما سبق أن زواج الاقارب يزيد من تماثل الألائل ويقلل من تغايرها. وإذا ما استمر زواج الأقارب جيلاً بعد جيل فستقترب المجموعة السكانية في النهاية إلى تماثل في الألائل بنسبة 100%.

يكثر زواج الأقارب من الدرجة الأولى في البلاد العربية وفي بلدان أخرى مثل الباكستان، بينما يشكل ما نسبته 0.4% و0.1% من جميع حالات التزاوج في اليابان والولايات المتحدة الأميريكية بالترتيب نفسه. يزيد زواج الأقارب من معدل الإصابة بأمراض وراثية مقارنةً بمجموعات سكانية أخرى لا يكثر فيها زواج الأقارب. لا نخفي هنا استفادة الباحثين من زواج الأقارب في تحديد مواضع الجينات المسؤولة عن الأمراض الوراثية المتنحية النادرة منها خصوصاً، وفي رسم الخرائط الوراثية.

الفصل السادس عشر

وراثيات الأمراض الشائعة

Genetics of Common diseases

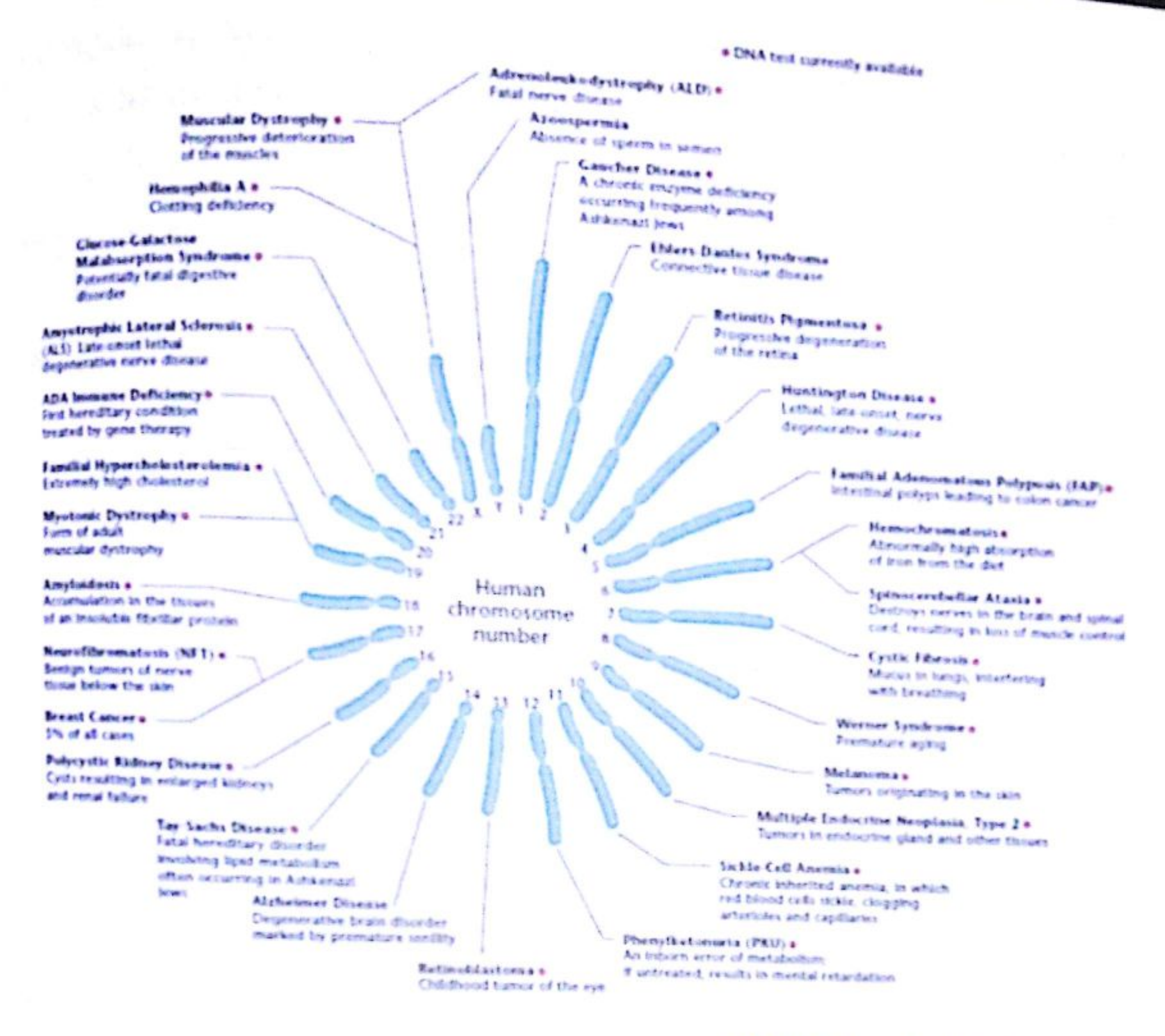
المحتويات Contents

أظهرت الدراسات على التوائم Concordance عند التوائم، وكذلك دراسة الارتباط العائلي، الكثير من الأمراض الشائعة متعددة العوامل الوراثية، إذ يؤهب جين أوعدة جينات الأفراد إلى تأثير عوامل بيئية معينة، ومن المحتمل أيضاً أن تتشارك الجينات في إحداث الاختلافات التي تظهر بين المرضى المصابين بمرض خاص من ناحية الإنذار، وتردد ونمط المضاعفات، والاستجابة للمعالجات المختلفة. ومن ثم ففي محاولة منا للإجابة عن أسئلة مثل: "لماذا يعاني المريض هذا المرض في مثل هذا الوقت؟ وما هو الإنذار؟"، نجد أنه لا يمكن التغاضي عن العوامل الوراثية أو تجاهلها.

وبالرغم من أن الدراسات العائلية، ودراسات التوائم يمكنها أن تثبت الإسهام الوراثي بالنسبة للاستعداد للإصابة، لا تتعرف على عدد أو طبيعة الجينات المسؤولة. ولكن حدث تقدم في هذا المجال باستعمال دراسات الترابط السكانية Population association studies، وتحاليل ثنائيات الأشقاء Sib pair Studies، وتحاليل الارتباط Linkage studies، وتحاليل الطفرات في الجينات المعينة. حتى الوقت الحاضر، تعد الوسيلة الأكثر استعمالاً هي دراسات الترابط السكانية، التي يقارن فيها تعدد اشكال الجينات موضع الاهتمام الأشخاص المصابين مع غير المصابين.

على سبيل المثال، يكون لدى 95% من مرضى السكري المعتمدين على الأنسولين، الألائل *DR3* أو *DR4 MHC*، في حين يكون التواتر المشترك 50% لدى الأفراد غير المصابين. يعتقد أن هذا النموذج، وأيضاً في ترافقات أخرى من نفس الطبيعة، تعكس ارتباطاً غير متوازن بين موضع الاستعداد للإصابة بالمرض والموضع ذي الصلة عند المصاب. تقارن تحاليل تردد تعدد الأشكال بين المصابين من ثنائيات الأشقاء. يوجد احتمال واحد في كل اثنين، وهو أن يستقبل كل شقيق أليلاً واحداً من الموضع من كل والد، ومن ثم فإن وجود المرض يمكن مقارنته بنسبة التردد التي يأخذ فيها الشقيق أحد الأليلين (المتوقع هو50%). أو ألا يأخذ كلا الأليلين (المتوقع 25%). أو يستقبل كلا الأليلين (المتوقع 25%) من الموضع الذي يُدرس. يمكن أيضاً استعمال تحاليل الارتباط الروتينية، وذلك باستعمال الواسمات متعددة الأشكال. إذا كانت الخلة متفاصلة (Discontinuous) إذا أشارت أي واحدة من تلك المقاربات إلى جين معين، عندها يمكن اختيار هذا الجين بالطرق الطفرية (Mutational method) في الأفراد المصابين. يحتاج الأمر إلى أبحاث أخرى لتعيين كل المواضع المشاركة لكل حالة، ولاكتشاف ما إذا كانت هذه المواضع المشاركة موجودة في العائلات المختلفة (التغاير الوراثي: Genetic heterogeneity)، وحتى يتم التفاعل بين النمط الجيني والعوامل البيئية في إنتاج النمط الظاهري النهائي. تم ترتيب الأمراض التي تناقش في هذا الفصل حسب ترتيب الحروف الأبجدية الإنجليزية.

وقبل أن نشرع بتعداد بعض الأمراض الوراثية نبيّن في الشكل التالي توزع جينات أهم تلك الأمراض الوراثية لدى البشر في النمط الفرداني البشري.

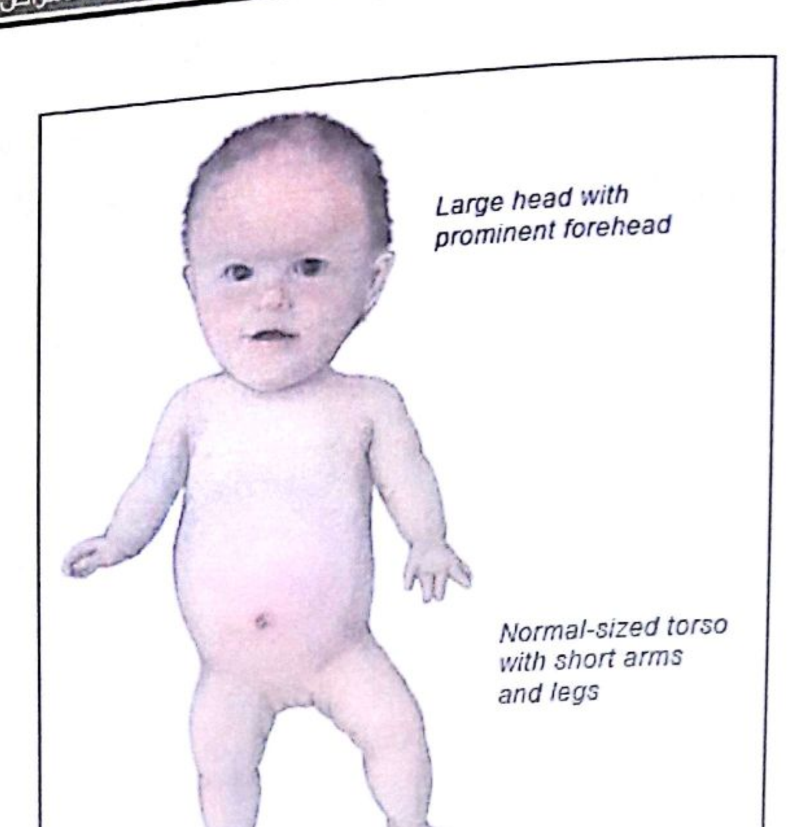


1.16.الودانة (Achondroplasia):

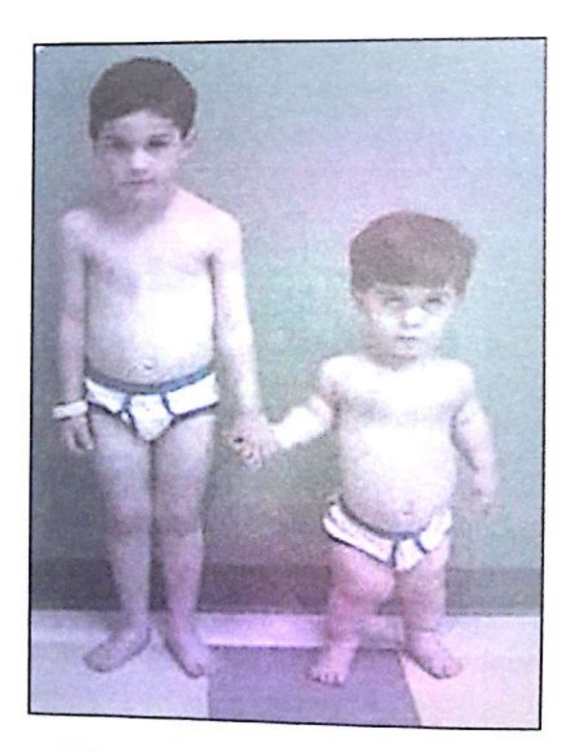
تشخص بوجود قصر في الأطراف خاصة الدانية Rhizomelia. ويكون الجذع سوي الطول مع قَعَس قطني Lumbar lordosis، ويوجد بروز جبهي مع انخفاض الجسر الأنفي، ويد ثلاثية الشعب Trident hand. مع تضيق المسافة ما بين السويقات Interpedicular القطنية في الصورة الشعاعية **(الشكل 16-1)**.

يكون متوسط الطول 123 سم. ويكون معدل الذكاء ومعدل البقيا في المجال السوي. الألم الظهري شائع، وهناك خطورة لانضغاط الفقرات في فترة من فترات الحياة بنسبة 5-10% **(الشكل 16-2)**.

تحدث هذه الحالة بسبب خلة جسدية سائدة، نتجت من طفرة نقطية خاصة (G380R)، (في عامل نموالأرومة الليفية) (FGF3) Fibroblast growth factor 3. تُظهر هذه الخلة نفاذاً كاملاً (Full penetrance)، مع اختلاف قليل في مدى التعبير عن المرض Expressivity (وهذا الأخير قد يشير إلى ثباتية الإمراضية الجزيئية). تردد هذه الحالة (1) في كل (15-77 ألف) ولادة حية في مختلف المسوح الوبائية، مع العلم أن 80-90% من المرضى تحدث الطفرة لديهم بشكل جديد.



(الشكل 16-1): الودانة **Achondroplasia**.



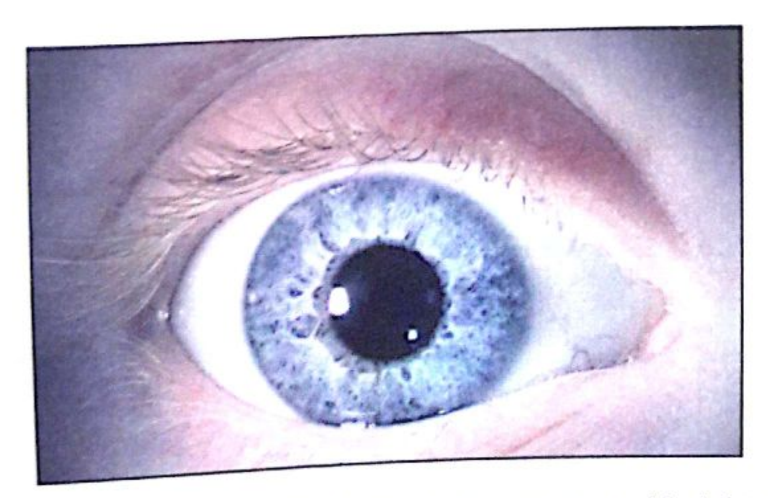
(الشكل16-2): الودانة **Achondroplasia**.

2.16. المهق الجلدي العيني (Occulo-Cutaneous Albinism):

يتصف بوجود جلد أحمر قرمزي، لا يتأثر بأشعة الشمس، شعر أبيض، وقزحية زرقاء أو قرنفلية Pink، ومنعكس واضح للون الأحمر. استجابة شاذة للإبصار بسبب خطأ في مسار ألياف الأعصاب البصرية. يوجد غياب إنزيم التيروزيناز في جذور الشعر في غالبية المرضى المصابين بالنمط الأول 90 -95% (الشكل 16-3) و(الشكل 16-4).



(الشكل 16-3): المهق الجلدي العيني Occulo-Cutaneous Albinism.



(الشكل 16-4): المهق الجلدي العيني Occulo-Cutaneous Albinism.

يحدث تعدّد في النمط الظاهري، اعتماداً على نشاط أو فاعلية البروتين الثمالي Residual protein. يوجد نقص في حدّة البصر غير مترقية. كما توجد زيادة خطورة الإصابة بسرطانة الخلية القاعدية (Basal cell carcinoma) وكذلك الورم الميلانيني (Melanoma).

يورث النمط الأول من المهق الجلدي العيني كخلة جسدية متنحية وتنتج بسبب الكثير من الطفرات في جين إنزيم التيروزيناز (Tyrosinase: *TYR*). يمكن تعيين الحاملين ضمن العائلة المصابة، عن طريق تحليل الدنا. وقد وصف التشخيص قبل الولادة عن طريق أخذ خزعات من جلد الجنين، وفحصها بالمجهر الإلكتروني (ويمكن أيضاً عن طريق تحليل الدنا). إن نسبة التواتر للإصابة بالمهق من النمط الأول المتشابه في الكثير من مختلف السكان، وتقدر بنحو واحد لكل 40 الفاً، يورث النمط الثاني من المهق الجلدي العيني أيضاً كخلة متنحية جسدية، وتنتج عن الكثير من الطفرات في الجين (*P*) تكون نسبة تواتر هذا النمط نحو واحد لكل 40 ألفاً من القوقازيين، ولكن تكون النسبة أكثر بكثير في سكان المناطق القريبة من مدار الاستواء. (على سبيل المثال واحد لكل 1400 في تنزانيا، ويحدث في تلك الحالات طفرات لجزيء من الدنا طوله (2.7 kb في 75–80% من المصابين)، أما في هنود الهوبي (Hopi Indians) فالنسبة هي واحد لكل 227.

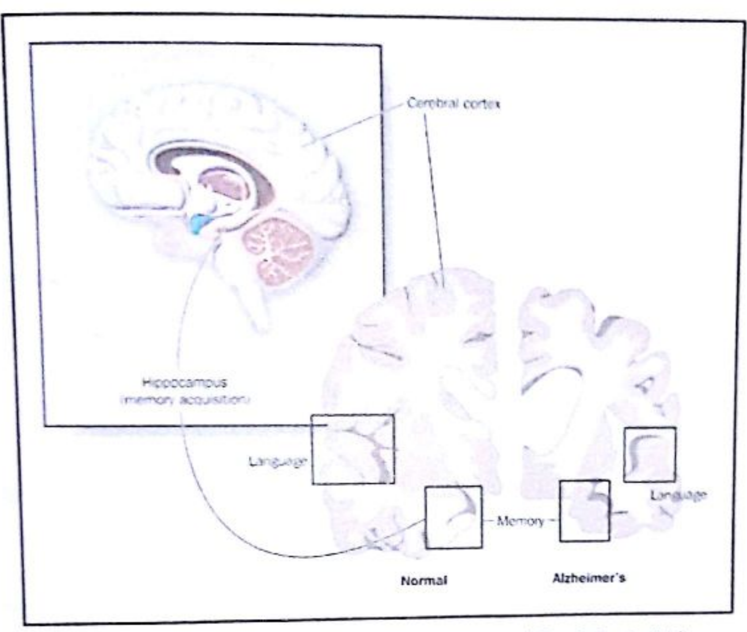
3.16. الكحولية (Alcoholism):

تحدث معاقرة الكحول، أوالاعتماد عليه في 19% من الرجال، ونحو4% من النساء، وقد وجدت مشاركة وراثية عن طريق دراسات التبني، والتوائم، وأنصاف الأشقاء (Half-sib). المعروف عن طبيعة المشاركة الوراثية قليل نسبياً، ولكن يشتبه في وجود نوع من التغاير الوراثي في كل من الاستعداد نحو السلوك الشاذ لمعاقرة الكحول، وكذلك بالنسبة للأذية التي تحدث بسبب هذه المعاقرة. ينقص لدى نحو 5% من الشرقيين نشاط إنزيم الألدهيد ديهدروجيناز في المتقدرات. يؤدي هذا النقص إلى بَيغ (Flushing) كريه عند تناول الكحول. هؤلاء الأشخاص أقل استعداداً لمعاقرة الكحول ممن لديهم فعالية سوية لهذا الإنزيم.

4.16. داء الزهايمر (Alzheimer Disease):

هذا المرض شائع، ويتميز بنوع مترق من الخرف، مع وجود إمراضية عصبية مميزة. احتمال خطورة الإصابة هي 5- 10% أثناء حياة الفرد، في عائلة تتميز بقصة مرضية لوراثة جسدية سائدة في 10% من المرضى. داء الزهايمر العائلي ينزع إلى أن يكون البدء فيه مبكراً (أقل من 60 سنة)، وأكثر الأسباب شيوعاً لحدوثه (75%) هي حدوث طفرات في البريسينيلين 1 (PS11Presenelin). تحدث هذه الطفرات في مواضع أخرى لدى بعض العائلات الأخرى، مثل بريسينيلن 2، وطليعة النشواني Amyloid Precursor (الشكل 16–5).

يترافق داء الزهايمر المتأخر البدء، مع ظهور أنماط جينية خاصة (صميم البروتين E (apoE) Apoprotein E). لقد وجد أليل صميم البروتين E4 في 64% من المرضى، بالمقارنة مع 31% فقط في عامة السكان (الخطورة النسبية 4). يظهر هذا الصميم ApoE 4 أيضاً علاقة كمية (Dosage effect) مع العمر، حيث يبدأ المرض باكراً من عمر المريض إذا كان متماثل الزيجوت بالنسبة لـ (ApoE 4) (أقل من 70 سنة). ويكون مسار المرض أكثر سرعة من الأنماط الجينية الأخرى (متوسط العمر عند بدء المرض في الأنماط الأخرى ApoE 2/3 تكون أكبر من 90 سنة).



(الشكل 16-5): داء الزهايمر Alzheimer Disease.

5.16. متلازمة عدم التحسس للأندروجين (Androgen Insensitivity Syndrome) متلازمة التأنث الخصوية (Testicular Feminization Syndrome):

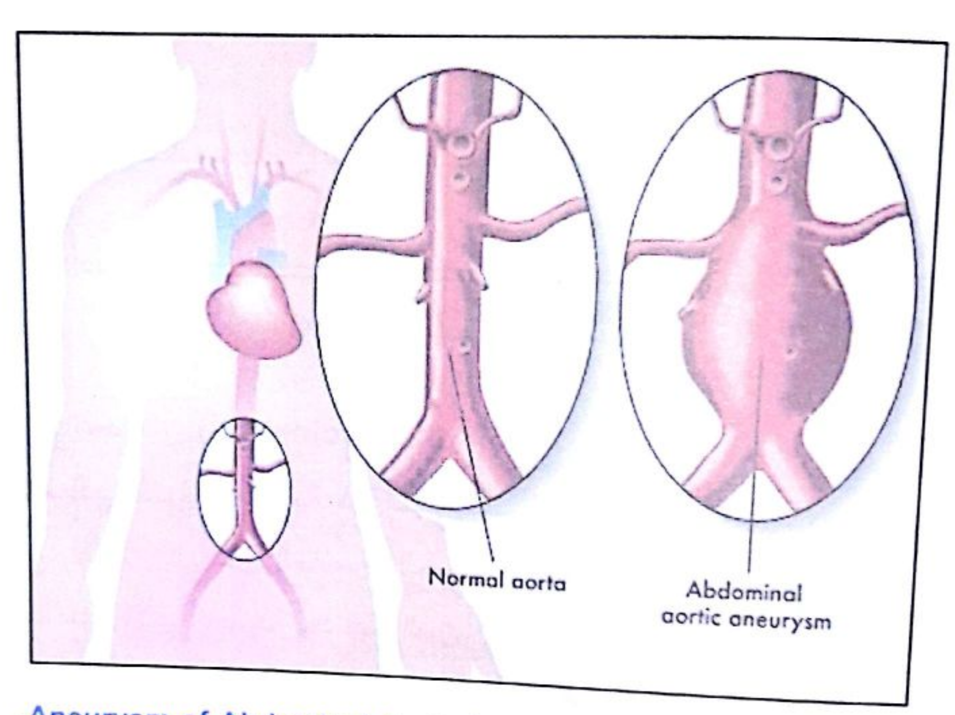
يكون النمط الظاهري أنثوياً، مع وجود نمو سوي للثديين، ولكن يوجد انقطاع طمث (Amenorrhea) أولي، وندرة في الأشعار عند العانة وبقية أجزاء الجسم، جراب مهبل أعور (Blind Vaginal Pouch)، وتوجد الخصيتان (Testicles) داخل البطن، والنمط الصبغي النووي (46،XY).

يحدث فتق مغبني 50٪، وأورام في الغدد التناسلية في حال عدم استئصالهما 5-20 ٪، وعقم 100 ٪. ولكن معدل الذكاء والبقيا ضمن الحدود السوية.

تورث هذه المتلازمة بخلة متنحية مرتبطة بالصبغي X، تنتج بسبب طفرات مختلفة في جين مستقبلات الأندروجين (AR)، مما يؤدي إلى تعارض الارتباط بالتستوستيرون، ومن ثم إبطال مفعوله، وكذلك مفعول دي هيدروتستوسستيرون. يمكن الكشف عن عامل الجين بوساطة تحاليل الدنا. ويكون تواتر هذه الحالة واحداً لكل 62 الفاً ذكر.

6.16. أمهات الدم الأبهرية البطنية (Aneurysm of Abdominal Aorta):

تحدث أمهات الدم الأبهرية البطنية بشكل أكثر شيوعاً فيمن تعدت أعمارهم 55 سنة، وهي أكثر شيوعاً عند الذكور من الإناث، وخطورة حدوثها في الأشقاء أثناء حياتهم تزداد إلى 60% إذا ما قورنت بالخطورة من عامة السكان، تصل إلى 15%، ويمكن استخدام التصوير بفائق الصوت للتقصي الروتيني من أجل كشف هذه الحالات قبل ظهور الأعراض (الشكل 16-6).

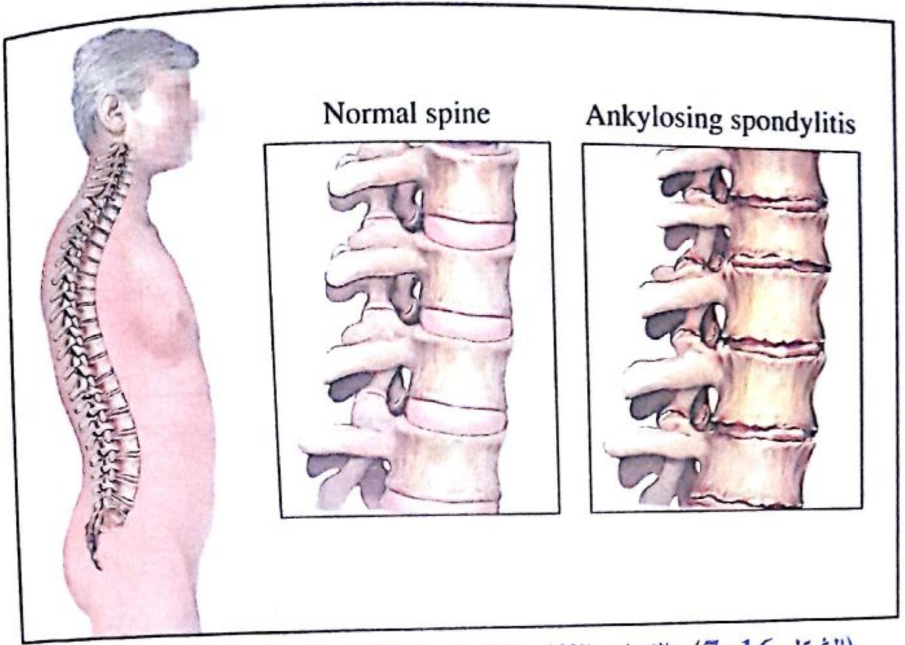


(الشكل 16-6): أمهات الدم الأبهرية البطنية Aneurysm of Abdominal Aorta.

7.16. التهاب الفقار اللاصق (Ankylosing Spondylitis):

يمكن أن يحدث التهاب الفقار اللاصق بشكل معزول، أو كاختلاط لداء الأمعاء الالتهابي، والحصيلة العامة للإصابة من الرجال هي اثنان لكل ألف رجل، و0.2 لكل ألف امرأة، تكون لديهم أعراض. وسواء كان المرض معزولاً أوثانوياً فإن 77-95% من المصابين يكون لديهم النمط النسيجي HLA-B 27، بالمقارنة مع 7% فقط في عموم السكان. وبالرغم من ذلك، فليس كل من لديه هذا الأليل يصاب بالمرض، كما إن طبيعة العوامل البيئية، وكذلك العوامل الوراثية المشاركة، وآلية تفاعلها مع بعضها غير معروفة (الشكل 16-7).

بالنسبة لأشقاء المريض الذي يمتلك النمط النسيجي HLA- B27، تكون خطورة الإصابة بالتهاب الفقار اللاصق 9% وكذلك إذا كان النمط النسيجي لديهم HLA- B27، في حين تكون الخطورة أقل من 1% لدى الأشقاء الذين لا يملكون هذا الأليل. تصل خطورة الإصابة بالتهاب الفقار اللاصق 2% عند الأفراد الذين يملكون النمط النسيجي HLA-B27، إذا لم يكن لديهم أقارب مصابون.

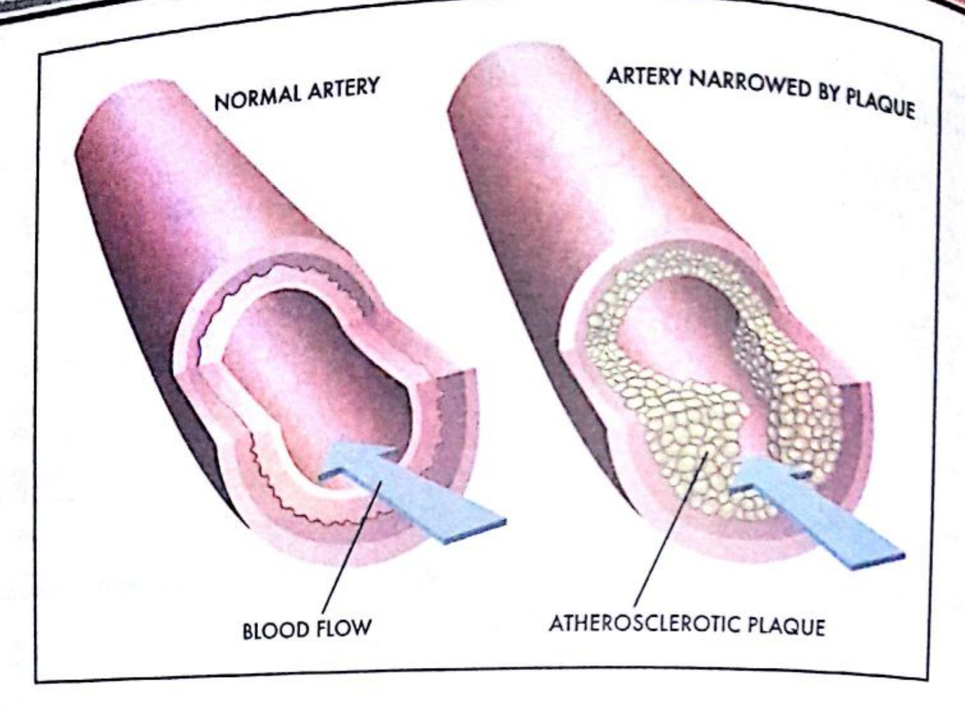


(الشكل 16-7): التهاب الفقار اللاصق Ankylosing Spondylitis.

8.16. التصلب العصيدي (Atherosclerosis):

إن التصلب العصيدي للشرايين التاجية هو أشيع سبب للموت عند البالغين. ويصاب واحد من كل 60 من الذكور عند وصوله إلى سن الخامسة والخمسين، وواحد من كل تسعين امرأة بمظاهر داء القلب الإقفاري، وتزداد نسبة الشيوع بسرعة بعد هذه السن. وبشكل عام تكون نصف الوفيات في البالغين بسبب داء القلب الإقفاري في أوروبا وأمريكا واليابان (**الشكل 16-8**).

إن الإمراضية متغايرة، ولكن عوامل الخطورة التي لا نقاش حولها تشمل التدخين، وصيغة شاذة لشحوم الدم (وحيد الوراثة أومتعدد العوامل أوبيئي)، وفرط ضغط الدم، والداء السكري، وقصة عائلية، ووجود قصة عائلية لحدوث الداء القلبي الإقفاري المبكر (أقل من عمر 55 سنة). بشكل عام، في حالات الداء القلبي الإقفاري المبكر، يوجد لدى ثلث الحالات صيغة شحمية دموية شاذة، ويكون نصف هؤلاء من مصدر وراثي وحيد الجين (Monogenic). إذا استثنينا مرض ارتفاع شحوم الدم ذا المصدر الوراثي الوحيد، فإن الخطورة الكلية لحدوث داء القلب الإقفاري تكون مضاعفة في الأقارب الذكور من الدرجة الأولى. ويتراوح التوافق (Concordance) بين التوائم المتماثلة (Identical) من 90-14%، وتكون أعلى النسب عند الذكور بالنسبة للداء المبكر.



(الشكل 16-8): التصلب العصيدي Atherosclerosis.

من أسباب فرط شحوم الدم أحادية الوراثة، وفرط كوليسترول الدم العائلي (P141): ارتفاع في مستويات Lp(a) لدى 20% من السكان، ويعتبر مسؤولاً عن 28% من أمراض القلب التاجية المبكرة. تكون مستويات Lp(a) ثابتة بالنسبة للفرد، وتحدد وراثياً كخلة جسدية سائدة. يرتبط التغير مع عدد (بين 15-40) من تكرارات شبه طليعة البلازمينوجين (Plasminagen- like repeats) في الجين المسؤول عن صميم البروتين الشحمي ((a)-Apolipoprotein) (العدد القليل من هذه التكرارات يترافق مع مستوى منخفض من Lp(a) والعكس صحيح).

يحدث فرط شحوم الدم العائلي المشترك المميز بزيادة في مستويات الكوليسترول، والغليسريدات الثلاثية في 0.5-2% من مجموع السكان، وهو مسؤول عن 10% من الداء القلبي التاجي المبكر.تظهر هذه الحالة وراثة سائدة جسدية، ولها ارتباط مع تجمع جينات صميم البروتين الشحمي على الذراع الطويل للصبغي 11(11q).

أوحت دراسات الترافق (Association analysis) دوراً لجين الإنزيم القالب للأنجيوتنسين (Angiotensin Converting Enzyme; ACE) في حدوث احتشاء القلب.

9.16. أهبة التأتب (Atopic Diathesis):

يتميز الأفراد الذين يعانون ظاهرة التأتب بنزعة نحو استجابة قوية ومتطاولة من إنتاج IgE كرد فعل لكميات ضئيلة من المستضدات. واحد من كل أربعة أفراد من عامة السكان لديه مثل هذه الاستجابة، وقد لا يكون لديهم أعراض أو ربما يحدث لديهم التهاب أنف أرجي (1 من كل 5 من السكان)، أو أكزيمة

تأتبية (1 من 25 من السكان)، أو ربو قصبي من منشأ خارجي (1 من كل 25 من السكان)، أو أي تشارك من هذه الحالات.

تورث غالباً الأهبة نحو التأتب كخلة سائدة جسدية، مع نفاذ غير كامل، كما تشير إلى ذلك وجود الأعراض. تبين تحاليل الارتباط في هذه العائلات أن موضع التأتب (Locus for atopy) يقع على الذراع الطويل للصبغي 11 (11q)، ويبدو أن البصمة الوراثية (Genomic imprinting) مكتنفة من ارتفاع نسبة خطورة حدوث التأتب عند الأطفال الذين تعاني أمهاتهم من التأتب، أكثر من الأطفال الذين يعاني آباؤهم التأتب في هذه العائلات.

10.16. اضطراب فرط النشاط مع عيب الانتباه (Attention Deficit Hyperactivity Disorder):

تصيب هذه الحالة نسبة واحد إلى عشرة من السكان وتظهر زيادة التواؤم في التوائم أحادية الزيجوت. ويحتمل أن تكون ثانوية لمتلازمة الصبغي X الهش، أو حالات بيلة الفينيل كيتون غير المعالجة، أو قد تكون هذه الحالات غير مفسرة. تزداد الخطورة عند الأقارب من الدرجة الأولى، وقد تصل من الشيوع إلى 30% بين الأشقاء.

11.16. التهاب الكبد المناعي الذاتي (Auto-Immune Hepatitis):

يترافق التهاب الكبد المناعي الذاتي مع النمط النسيجي HLA B 8 وDR3 في مركب التوافق النسيجي. أظهرت دراسات تسلسل الدنا شكلاً خاصاً للأحماض الأمينية (LLEQKR)، في الموضع 67-72 لـ DRB، في 94% من المرضى (الخطورة النسبية 9 أضعاف). يقع هذا الموضع في الأخدود الرابط للببتيد (Peptide binding groove) الخاص بـ DR، ويمكن له أن يتفاعل مع الببتيد الرابط، ومع مستقبل الخلية التائية، ويعتقد أن الشكل المغاير يؤهب للمرض عن طريق استجابة شاذة لمستضد خارجي.

12.16. التوحد (Autism):

تصيب حالات التوحد واحد من كل 500-2000 فرد، وتتميز بالبدء في الطفولة، بخلل في التطور الاجتماعي، واللغوي، والاستعراف، ونماذج نمطية للاهتمامات والنشاطات. يترافق مع هذه المظاهر إعاقة عقلية عند 75% من المصابين، ويحدث الصرع عند 30% يتراوح التواؤم عند التوائم الأحادية بين 40-90% ويمكن أن تزداد إذا أخذ في الحسبان درجة أقل حدة من الخلل المعرفي. يجب استبعاد الإصابة بمتلازمة الصبغي X الهش، وكذلك التصلب الحدبي (Tuberous sclerosis). وتكون خطورة الرجعة الفعلية بين الأشقاء 3-5%، في حين تكون الخطورة أقل 0.13% بين الأقارب من الدرجة الثانية والثالثة.

13.16. الثلاسيمية بيتا (Beta-Thalassemia):

تظهر اللطاخة الدموية للحالات متماثلة الزيجوت نقص صباغ شديد (Hypochromia) وكريات صغيرة (Microcytes)، مع وجود خلايا هدفية (Target cells)، وزيادة في الهيموغلوبين F. وعادة ما توجد زيادة في الهيموغلوبين A2 أيضاً. ينقص أو ينعدم تصنيع البيتا – غلوبين.

يحدث لدى متماثلي الزيجوت (أو مغايري الزيجوت المركب) فقر دم مزمن شديد، بسبب عدم فعالية تكون الكريات الحمر، وكذلك انحلالها، ويحتاج هؤلاء المرضى إلى نقل دم متكرر. يقل معدل البقيا لدى هؤلاء المرضى بالرغم من التدبير الجيد. شدة المرض متفاوتة ويعتمد ذلك على الآفة الجزيئية، وترافقها في نفس الوقت مع اعتلالات هيموغلوبينية (Hemoglobinopathies) أخرى.

تورث كخلة متنحية جسدية مع وجود عدد مختلف من الطفرات (أكثر من 120) في مجموعة الجينات البيتا - غلوبين ($\alpha HBBCO$) لقد أدّت عملية الانتقاء إلى إحداث تواتر مرتفع من حملة البيتا – ثالاسيمية في السكان حول البحر الأبيض المتوسط (مثلا واحد لكل ستة عند القبارصة، وواحد لكل أربعة عشرة عند اليونانيين). أما هنود آسيا (واحد من كل ستة إلى واحد من كل 50)، وعند الصينيين (واحد من كل 50). وقد لوحظ وجود طفرة خاصة شائعة تصيب كل مجموعة سكانية. (على سبيل المثال: في البيتا غلوبين – تتوضع الطفرة بين G–C عند النوكليوتيد 5 للإنترون 1 عند الهنود، في حين توجد (Q X 39) في سكان سردينيا). يمكن الكشف عن الحملة Carriers عن طريق التحاليل الدموية (صغر حجم الخلايا MCV أقل من 80 fl ونقص متوسط الهيموغلوبين في الخلية MCH أقل من 27 Pg، وزيادة الهيموغلوبين A2 لأكثر من 3.5 ٪). يمكن عمل التشخيص قبل الولادي بتحاليل الدنا على عينات من الزغابات المشيميائية، أو بأخذ عينة عن دم الجنين وإجراء الفحوص الدموية عليها.

14.16. عمى الألوان (Color Blindness):

يمكن الكشف عن هذه الحالات عن طريق لوحات الإبصار الملونة. (Color vision charts) وتكون حدة الإبصار في الحدود السوية.

تعتمد رؤية الألوان السوية على ناتج ثلاثة مواضع Loci، الأزرق (BCP)، على الصبغي رقم 7، والأحمر (RCP) والأخضر (GCP)، على الصبغي (Xq28)، يحدث عدم تساوي في التعابر Unequal crossing بشكل شائع بين جينات الأحمر والأخضر، وينتج عن ذلك تغيّر، أو فقد امتصاصية الطيف لنتاجات جين الأحمر والأخضر. تصيب العيوب المتنحية المرتبطة بالصبغي X

لرؤية الألوان الحمراء والخضراء 8٪ من الذكور القوقازيين (وهي نادرة في السود والشرقيين)، مع غياب جين الأحمر أو الأخضر في ربع الحالات، وتغيّر في هذه الجينات لدى البقية.

15.16. فرط تنسج الكظر الولادي (نقص 21-هيدروكسيلاز) Congenital Adrenal Hyperplasia (21-Hydroxylase Deficiency):

تحدث صدمة (Sall-losing)، تحدث فيها فقد الأملاح في الحالات التي يحدث فيها فقد الأملاح تحدث إقياءات عند الوليد، وفي الحالات التي يحدث فيها فقد الأملاح، وفي الذكور هناك وقد تؤدي إلى الوفاة. تُشاهد مظاهر الترجل عند الإناث، مع أعضاء تناسلية مبهمة، وفي الذكور هناك بلوغ مبكر. مع ارتفاع الكيتوستيرويدات والبرغنانتريول (Pregnanetriol) في البول. فحص الدم يُظهر ارتفاعاً شديداً في 17 هيدروكسي بروجسترون و(ACTH)، تعود هذه التغيرات الكيميائية إلى المستوى السوي مع المعالجة.

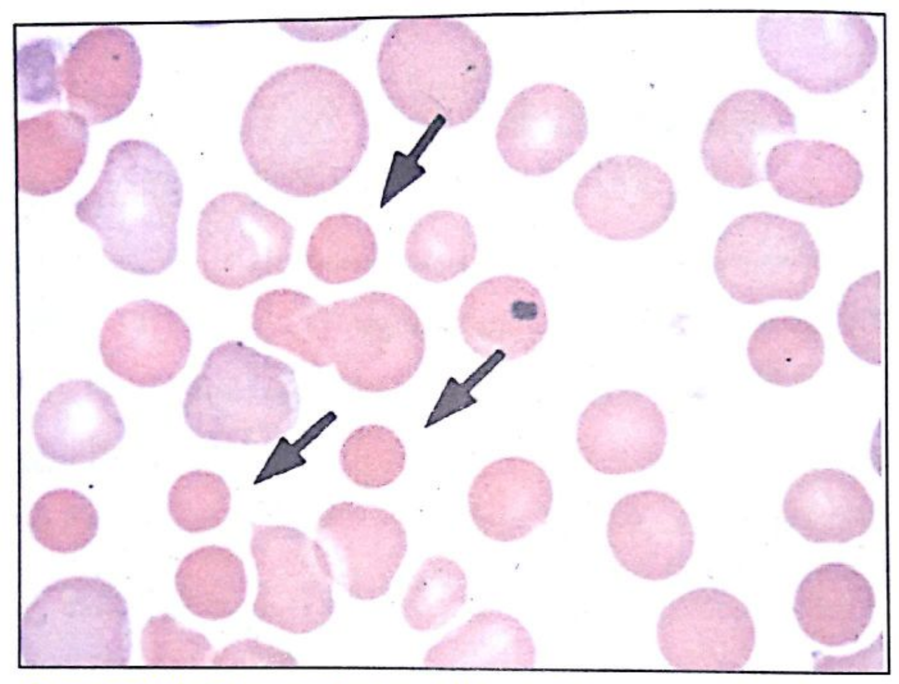
يبقى معدل البقيا والخصوبة في المجال السوي إذا شخصت الحالة مبكراً، وبدا العلاج الاستبدالي بوساطة الهيدروكورتيزون والفلودروكورتيزون.

يورث كخلة متنحية جسدية بسبب تحول الجين Gene Conversion في 70٪ من الحالات، أو التعابر غير المتساوي Unequal crossing-Over (30٪ من الحالات) التي تشمل جينات السيتوكروم الفاعل (*P450*)، المسؤول عن 21 هيدروكسيلاز، والمرتبطة مع مركبات التوافق النسجي الكبرى (MHC) على الصبغي 6. إن الطفرة الأكثر شيوعاً في المملكة المتحدة هي تحول الجين الفاعل (*CYP21B*) إلى النوع المجاور من الجين الكاذب (*CYP21A*) Pseudogene، ويظهر هذا النوع من الطفرات ترابطاً غير متوازن مع النمط الفرداني (HLA A11،DR4 .B55). النماذج التي لا تفقد الملح، وكذلك التي تفقد الملح 50٪ تكون متشابهة الأليل، ومن ثم تبدي بعض مستويات الفاعلية للإنزيمات المتبقية. يمكن التعرف على الحملة بوساطة تحاليل الدنا، كما أن التشخيص قبل الولادي متوفر عن طريق قياس 17 هيدروكسي بروجستيرون في السائل السلوي أو بوساطة تحاليل الدنا في عينات من الزغابات المشيمائية. وذلك من أجل إعطاء الدكساميثازون، (1.5 ملجم يومياً) مقسماً على عدة جرعات، حتى يمنع الترجل (Verilization) لدى الجنين الأنثوي المصاب. نسبة الوقوع هي واحد إلى 8000-26000 في الولايات المتحدة الأمريكية، ونحو واحد إلى 17000 في المملكة المتحدة، وأخيراً نحو واحد إلى 500 في اليوبيك الأسكيمو. يعتبر نقص 21- هيدروكسيلاز هو أشيع الأسباب (95%) لمتلازمة فرط التنسج الكظري الولادي، ولكن عرفت حالات نقص إنزيمات أخرى نادرة، تتصف بملامح سريرية مغايرة، وشذوذات بيوكيميائية مختلفة.

16.16. داء تكور الكريات الخلقي (Congenital Spherocytosis):

يتميز بفقر دم انحلالي مزمن مع ضخامة طحالية، وارتفاع في نسبة البيليروبين غير المباشر، ووجود الكريات الحمراء الكروية مع زيادة في متوسط تركيز الهيموغلوبين في الكرية (MCHC)، وتناقص في مدى بقيا (Survival) هذه الكريات، وزيادة في هشاشتها التناضحية (Osmotic fragility). قد يؤدي استئصال الطحال إلى منع نقل الدم المتكرر، والوصول إلى بقيا سوي (الشكل 16-9).

هذه الحالات متغايرة الوراثة وذلك بسبب طفرات في جينات (Ankyrin)، (β-Spectrin)، وألفا سبيكترين، وبروتين (4.2). تُظهر معظم العائلات وراثة سائدة جسدية، ولكن يمكن أن تكون متنحية جسدية. نسبة التواتر واحد لكل خمسة آلاف.



(الشكل 16-9): داء تكور الكريات الخلقي Congenital Spherocytosis.

17.16. الداء الليفي الكيسي (Cystic Fibrosis):

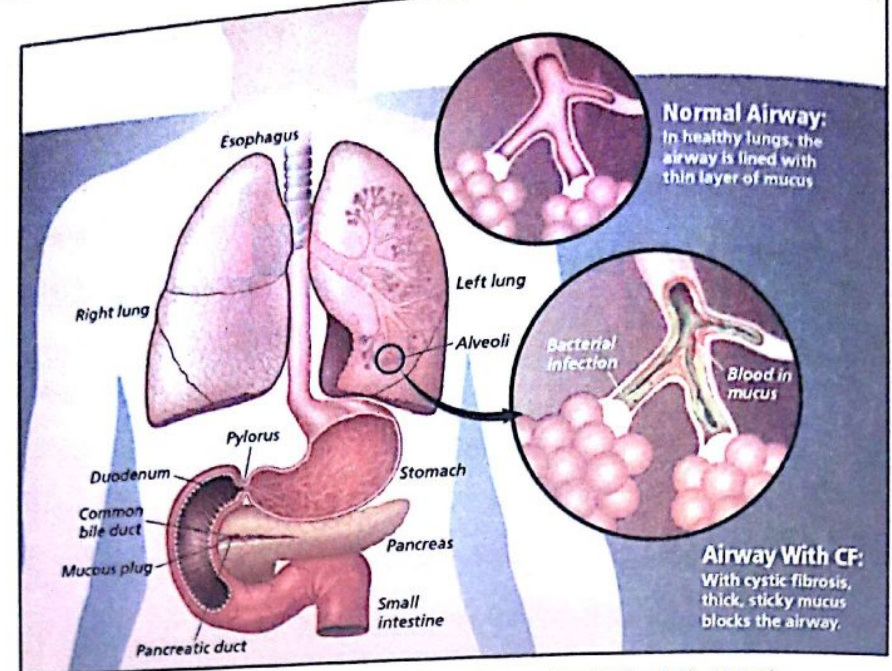
يشخص بقياس الصوديوم في العرق إذ يكون أكثر من (60 ميلي مول/ليتر)، والكلور أكثر من (70 ميلي مول/ليتر). ويمكن الحصول على كمية كافية من العرق، بعد تطبيق البيلوكاربين على الجلد، واستعمال تيار كهربائي (Iontophoresis). يعتبر عدم وجود التربسين (Trypsin) في عصارة البنكرياس، مع ارتفاع التربسين المقاس مناعيا في دم الوليد. وهي معطيات تتيح التقصي (Screening) في الولدان (**الشكل 16-10**).

يحدث قصور البنكرياس في 85-90%، وآفة مرضية مزمنة في الرئة ثانوية للإنتان المتكرر، يحدث أيضاً تدل للمستقيم 5-10%، ويصاب الذكور بالعقم 98%، ويوجد عقي (Meconium) في 5-10٪، وتشمع كبد 1-5٪، وتكون البُقيا الوسطية نحو 25 سنة، ولكن هناك اختلاف في شدة الصورة السريرية.

تورث حالة التليف الكيسي كخلة متنحية جسدية، وتحدث بسبب عدد مختلف (نحو500) من الطفرات في الجين المنظم للتوصيل عبر الأغشية في التليف الكيسي (*CFTR*) يوجد خبن مقداره (bp3) في الموضع (508) (F508). ويمثل أكثر الطفرات شيوعاً. إذ تشكل 70- 80 ٪ من الألائل الطافرة في شمال أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية، ولكنها أقل شيوعا في جنوب أوروبا 45-55 ٪، وفي الأمريكيين السود 37 ٪، والأشكيناز 30%. يصنع البروتين عند المصابين بـ (ΔF 508) بشكل خاطئ أثناء عملية الترجمة، ويحدث له تدرك (Degradation) قبل أن يصل إلى مكان عمله. بالنسبة للطفرات الأخرى، يكون معظمها طفرات خاطئة التعبير (Missence) 40٪ ثم انزياح الإطار (Frameshift) 30، طفرة عديمة المعنى Nonsense 20% وطفرات تضفيرية (Splicing mutations) 10%، وتعتبر الطفرات الطويلة نادرة.

الحالات متماثلة الزيجوت لـ (ΔF 508) (التي تمثل نصف الحالات في شمال أوروبيا وفي المرضى الأمريكيين)، أو الطفرات الأخرى التي لا تبقي لها أي وظيفة. تترافق مع عدم كفاية للوظيفة البنكرياسية. إلا أن النمط الجيني (حتى في داخل العائلة نفسها)، لا ينبئ عن مدى شدّة الإصابة الرئوية التي تمثل العامل الرئيسي للإنذار. من ناحية أخرى، فإن متماثلي الألائل، ومتغايري الألائل المركب، التي بقي لها جزء وظيفي، تكون الوظيفة البنكرياسية سليمة، وعند البعض، تكون الأعراض الوحيدة هي الالتهابات المزمنة للجيوب (Chronic sinusitis)، أو العقم عند الذكور، بسبب الغياب الولادي للأسهر (Vas-deferens) وهذه الحالة تمثل 6 ٪ من كل حالات العقم عند الذكور).

يمكن الكشف عن الحملة، وكذلك إجراء التشخيص قبل الولادي بعمل التحاليل الدنا نسبة تواتر المصابين متماثلي الزيجوت نحو(1) لكل 2500 في شمال أوروبا، ونسبة الحملة (Carrier State) هي واحد لكل 25، ولكنها أقل شيوعاً في السود (1 لكل 17000 في السود الأمريكيين)، وفي الشرقيين.



(الشكل 16-10): الداء الليفي الكيسي Cystic Fibrosis.

18.16. الداء السكري المعتمد على الأنسولين

:(Insulin-Dependent Diabetes Mellitus; IDDM)

يعد الداء السكر حالة متعددة الأشكال، ولها على الأقل ثلاثة تحت أنماط سريرية، المعتمد على الأنسولين (الشبابي البدء)، غير المعتمد على الأنسولين (الكهلي البدء)، وكل من هذين النمطين يُظهران وراثة متعددة العوامل، وأخيراً السكري الذي يتظاهر في اليافعين Diabetes of Youth (MODY)). هذا النمط الأخير يورث كخلة سائدة جسدية، وقد تبين في أغلب العائلات أنه يحدث بسبب طفرات في جين إنزيم الغلوكوكيناز.

يُقدّر التردد الكلي للداء السكري المعتمد على الأنسولين بواحد لكل خمسمئة، ويمثل التواؤم 40-30% من التوائم أحادية الزيجوت، بالمقارنة مع 6% من التوائم ثنائية الزيجوت. إن درجة الخطورة الكلية بالنسبة للأشقاء هي 6.65%، وتكون الخطورة 4.8% بالنسبة للطفل إذا كان الأب مصاباً، ولكن تكون الخطورة 2% إذا كانت الأم مصابة.

إن أول إشارة نحوالمشاركة الوراثية في الإصابة بالداء السكري المعتمد على الأنسولين جاءت عن طريق دراسات الترافق (Association studies) مع مركبات التوافق النسيجي الكبرى. وضعت الترافقات البدئية مع HLA B8 أوB15 (نحو60% من المرضى)، وكانت هذه مفاتيح للمعقدات DR3 وDR4 على التوالي، التي كانت في حالة عدم توزان الارتباط (Linkage disequilibrium).

كان لدى 95% من المرضى DR3 وDR4 بالمقارنة مع تواتر مشترك لهما بمقدار 50% من السكان الطبيعيين. لقد دعم هذا الترافق دراسات ثنائيات الأشقاء Sib pair analysis التي أوضحت أن الأشقاء

المصابين لديهم نفس النمط الفرداني لمركبات التوافق النسيجي الكبرى MHC في 57% (المتوقع 25%)، ولديهم نمط فرداني مشترك 38% (المتوقع 50%)، وليس لديهم نمط فرداني مشترك في 5% فقط (المتوقع 25%). إضافة إلى ذلك يزداد الترافق والخطورة النسبية إذا دُرست تحاليل تعدد أشكال النا عند الموضع المجاور DQBI. كما بينت دراسات التسلسل عند هذا الموضع تغيرات ثابتة عند مكان الحمض الأميني 57 الذي يمثل جزءاً من الفلح الرابط للمستضد (Antigen binding cleft).

إذا كانت الأحماض الأمينية ألانين، فالين، وسيرين موجودة في ذلك الموضع، عندها يكون لدى الأفراد استعداد للمرض، في حين يضفي وجود الأسبارتات (Aspartate) مقاومة لحدوث المرض. إن النسبة الكلية لمرضى الداء السكري المعتمد على الأنسولين، ويكونون متماثلي الزيجوت لسلبية الأسبارتات، هي 90-96%. ويكون الباقون مغايري الزيجوت بالمقارنة مع متماثلي الزيجوت لسلبية الأسبارتات في عامة السكان 19.5% (الخطورة النسبية 107). يعتقد أن هذه التغيرات مسؤولة عن 60-70% لتكوين الاستعداد الوراثي للداء السكري المعتمد على الأنسولين، مع بعض الشواهد على مشاركة مهمة لموضع آخر على الذراع الطويل للصبغي 14، وعند أو قرب جين الأنسولين على الذراع القصير للصبغي 11، ومواضع أقل أهمية على صبغيات أخرى.

لقد تمت أيضاً دراسة طبيعة العوامل البيئية المؤهبة. كان لدى نحو 30% من المرضى المشخصين بشكل جديد أضداد من نوع IgM ضد فيروسات كوكساكي B4 أو B5 (Coxsackie B4 or B5)، وبعض الدلائل على العدوى بالفيروس المضخم للخلايا (Cytomegalovirus) في بعض المرضى. وبالرغم من ذلك فهناك بعض المرضى الآخرين إذ لم يتعرف على عامل بيئي واضح، وبقي التساؤل قائماً عما إذا كانت هناك أذية معينة موجودة.

19.16. الداء السكري غير المعتمد على الأنسولين (Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus; NIDDM):

يصيب هذا النوع من الداء السكري 3-7% من البالغين في الدول الغربية، ويكون التواؤم بين التوائم أحادية الزيجوت نحو 100%، بالمقارنة مع 10% من التوائم ثنائية الزيجوت، 10% من الأقارب من الدرجة الأولى. وعلى عكس الداء السكري المعتمد على الأنسولين، لا يوجد ترافق مع الزمر النسيجية HLA، ومازالت طبيعة المشاركة الوراثية تحت الدراسة.

20.16. الصرع (Epilepsy):

هناك نحو 200 اضطراب أحادي الجين (Monogenic)، يكون الصرع ضمن مكوناتها، ولكن كل من هذه الاضطرابات نادرة الحدوث، وجميعها مسؤول عن أقل من واحد بالمئة من مرضى الصرع. وبشكل عام فكلها تظهر ملامح سريرية إضافية، تمثل مع شجرة العائلة دلائل مهمة على التشخيص.

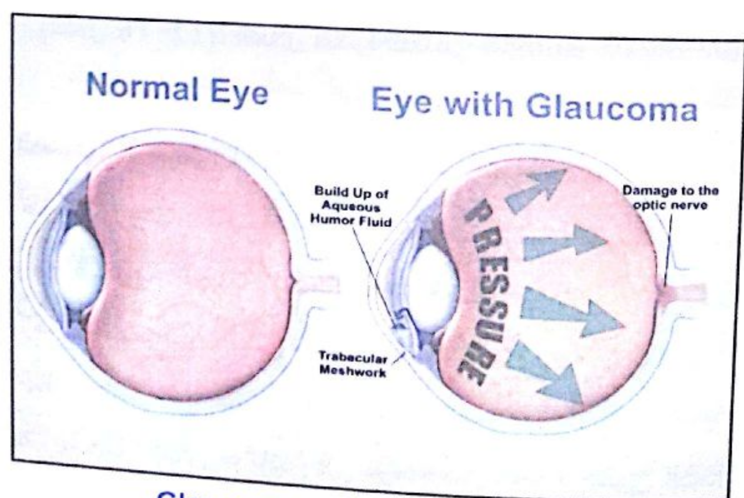
يكون الصرع متعدد العوامل أكثر شيوعاً، وهو مسؤول عن ما يصل إلى 20% من مرضى الصرع. وعادة لا توجد ملامح أخرى مرافقة، ومن أجل المشورة الوراثية توجد بعض الخطورة التخبرية (المأخوذة عن الخبرة العملية Empiric).

تحدث بعض الاختلاجات المصاحبة للحمى في 2-5%، عند الأطفال في أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية. تمثل الخطورة لدى الأشقاء 10-20% والخطورة في نسل الشخص المصاب نحو 10%.

يصيب الصرع المعمم مجهول السبب (Idiopathic generalizied) الصرع الكبير (Grand mal) واحداً من كل 200 من السكان، ويحمل خطورة رجعة بمقدار واحد لكل 25 بالنسبة للأقارب من الدرجة الأولى (8.7% ببلوغ عمر 25 سنة إذا كانت الأم مصابة، 2.4% إذا كان الأب مصاباً). وترتفع نسبة الخطورة لتبلغ واحداً من كل عشرة إذا كان اثنان مصابين من الأقارب من الدرجة الأولى. يصيب الصرع الصغير (Petit mal) واحداً من كل 15.000 طفل، ويحمل خطورة بالنسبة للنسل بين 8-10%، وخطورة بين الأشقاء 5-10%.

21.16. الزَّرَق (Glaucoma):

يصيب الزرق مفتوح الزاوية الأولي (Primary open-angle)، واحداً من كل 200 من الأفراد البالغين، ويحمل نسبة خطورة بمقدار واحد من كل عشرة من الأقارب من الدرجة الأولى (**الشكل 16-11**).



(الشكل 16-11): الزرق Glaucoma



22.16. انحلال البشرة الفقاعي (Epidermolysis Bulosa):

توجد تحت أنماط (Subtypes) متعددة، مع وجود مجال واسع للأنماط الظاهرية من شدة النفطات (Blisters) الجلدية، نتيجة التعرض للرض. قد يحتاج تقسيم الأنواع إلى إجراء التشريح المرضي بما في ذلك استعمال المجهر الإلكتروني.

يختلف الإنذار حسب التصنيف (وتتراوح بين الموت الوليدي إلى بقيا حياة طبيعي).

إن أكثر الأنماط شيوعاً هو انحلال البشرة الفقاعي البسيط (Simplex) إذ يحدث انشطار في الخلايا القاعدية البشروية. هناك تحت أنماط عديدة، كل منها يورث كخلة سائدة جسدية بسبب طفرات في جينات الكيراتين. (مثل، الكيراتين 14)، أوالجينات المتحكمة فيها (مثل: كيراتين 14 أوكيراتين 5).

يُظهر النوع الحثلي (Dystrophic) وراثة متنحية جسدية، ويمكن التشخيص قبل الولادي عن طريق خزعة الجلد من الجنين وفحصها بالمجهر الإلكتروني (**الشكل 16-12**).



(الشكل 16-12): انحلال البشرة الفقاعي **Epidermolysis Bulosa**.

23.16. متلازمة الصبغي X الهش (Fragile X Syndrome):

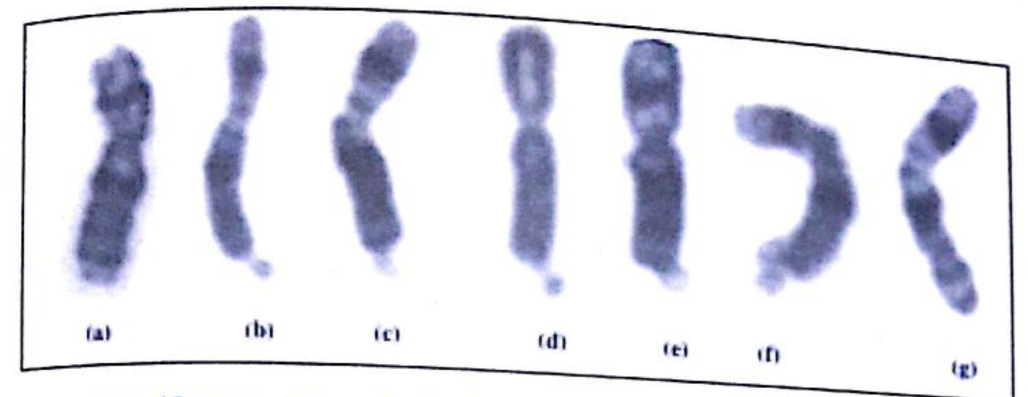
يتم تشخيصه تحت ظروف زرعية خاصة (أوساط ناقصة لمواد الثيميدين وكذلك ديزوكس سيتيدين)، عادة ما تُظهر الفحوص الخلوية الجينية (Cytogenetics) في الذكور والإناث المعاقين عقلياً ولديهم الصورة الكاملة لمتلازمة الصبغي X الهش، نقطة هشة عند (Xq27-3) في 10- 40٪ من الخلايا (**الشكل 16-13**). يظهر الموضع الهش أيضاً في نصف الإناث غير المصابات والحاملات للطفرة الكاملة. ولكن الباقيات، والحملة (ذكور وإناث) في مرحلة قبل الطفرة، تكون التحاليل الخلوية الجينية لديهم سوية.

تُظهر تحاليل الدنا في العادة طفرة طويلة غير مستقرة في الموضع (CGG) المتكرر (عادة ما يكون التكرار 6- 52 مرة بمتوسط مقداره 30 تكراراً) في ناحية (5' UTR) من الجين (FMR1) يكون قد شدفة الدنا لدى الذكور قبل مرحلة الطفرة – وهذه الشدفة التي تحتوي على تكرار (CGG) في حدود 150-500 bp). وتشاهد زيادة مماثلة لتلك التكرارات عند النساء في مرحلة قبل الطفرة، والشريط الثاني يمثل الصبغي X الطبيعي. يحل محل الشريط الطبيعي لدى الذكور المصابين، شريط فرداني أكبر (1-4 kb)، أو الكثير من الشرائط المحددة والأكبر، أو لطاخة من شدف الدنا (وتمثل عدم الثبات الجسدي للطفرة). إن الحاملات الإناث للطفرة الكاملة (سواء كن سويات أومعاقات عقلياً) لديهن شريط سوي بقد طبيعي بجانب الشريط أوالشرائط الطافرة، كما يُشاهد أيضاً عند الذكور المصابين. في حالة الطفرة الكاملة، يصبح الجين (*FMR1*) مفرط التمثيل، ويثبط الانتساخ (**الشكل 16-14**).

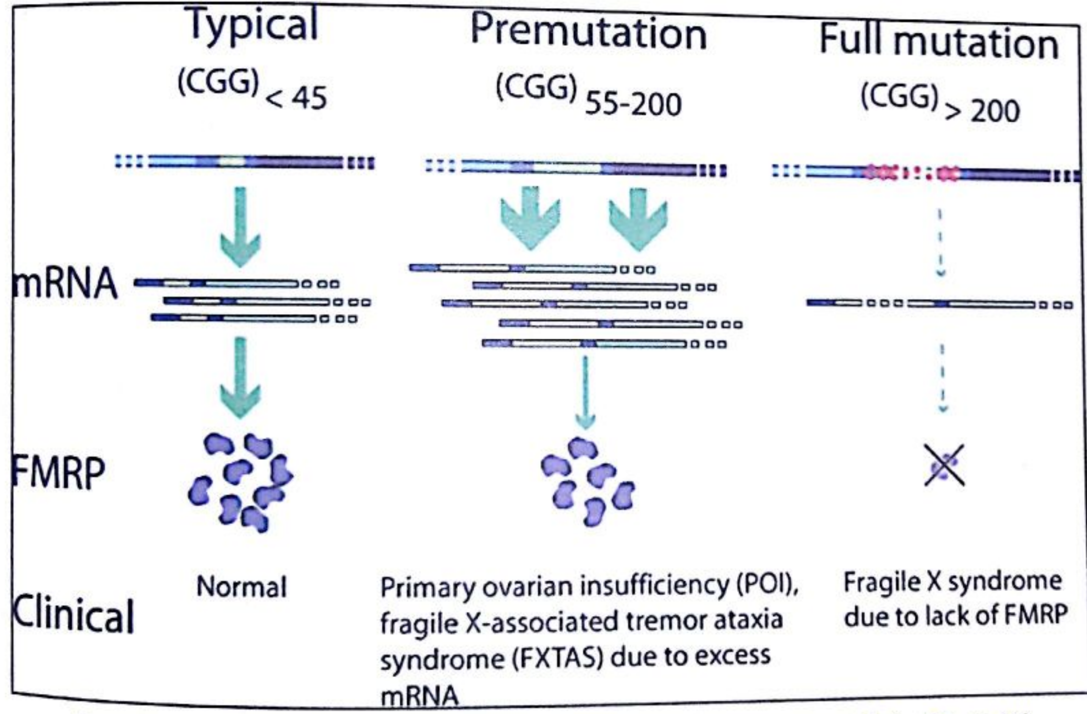
يكون الحملة من الذكور والإناث لمرحلة ما قبل الطفرة (Premutation) (الطفرات قصيرة الطول) أسوياء من الناحية السريرية. قد تكون الإناث المصابات بطفرة كاملة طبيعيات، أو قد يظهر إعاقة دماغية خفيفة 20-30 ٪، أو متوسطة 1 ٪، في حين يكون الذكور المصابون بطفرة كاملة معاقين عقلياً، و50 ٪ منهم يكون لديهم خصية كبيرة عند البلوغ. أما الملامح الأخرى غير الثابتة فتشمل كبر الأذنين، واستطالة الوجه، والفقم (Prognathism)

تؤدي عدم ثباتية الطفرة الطولية إلى وراثة غير نمطية مرتبطة بالصبغي X في هذه المتلازمة. فجميع البنات المنحدرات من ذكور أسوياء إكلينيكياً لديهم حالة ما قبل الطفرة (Premutation) (ذكور ناقلين أسوياء) يرثون حالة ما قبل الطفرة، وينقلونها إلى النسل كما هي أو بعد أن تتطور إلى الطفرة الكاملة. ويمكن أن تمتد الطفرة الكاملة زيادة على ذلك في النسيج الجسدي أو عند الانقسام الانتصافي لدى الإناث. على هذا الأساس، يمكن أن يكون لدى الأقرباء المصابين طفرات طويلة مختلفة، ويُظهرون اختلافات عديدة في الأنماط الظاهرية. في الممارسة يكون لدى أمهات الذكور المصابين إما حالة ما قبل الطفرة، وإما الطفرة الكاملة. من ناحية الأمهات اللائي لديهن الطفرة الكاملة فإن نصف أولادهن الذكور سيكونون معاقين عقلياً، وستأخذ نصف بناتهن الطفرة الكاملة (ونصف هذه البنات سيكن معاقات عقلياً بدرجات مختلفة). يمكن التشخيص قبل الولادي عن طريق تحليل الدنا في الثلث الأول من الحمل، ولكن التكهن بمن من الإناث اللائي سيأخذن الطفرة الكاملة سيكن معاقات، ما زال غير ممكن. بالنسبة للأمهات اللائي لديهن حالة ما قبل الطفرة، فإن خطورة امتدادها إلى الطفرة الكاملة عند الانقسام الانتصافي يعتمد على قد ما قبل الطفرة، إذ تكون 16% إذا كانت التكرارات (61-70 CGG)، وتكون 70% (71- 80 CGG) وأخيراً 100 ٪ إذا كانت التكرارات (أكثر من 80 CGG).

إن أكثر الأسباب شيوعاً للإعاقة العقلية هي متلازمة الصبغي X الهش، ويكون تواترها واحداً لكل 1250 ذكراً، ولكن تواتر ما قبل الطفرة يكون أكثر (واحد إلى 500-1500 في الذكور، وواحد لكل 250-510 في الإناث).



(الشكل 16-13): الموضع الهش عند (Xq27.3) (a) صبغي X طبيعي (الغصابات G) الموضع موضح كفسحة gap (c-e) الموضع موضح ككسر كروماتيدي عند الفسحة (d: aceto-orcein) (f) ثلاثي التشعيع نتج من كسر كروماتيدي عند انقسام سابق تبعه لاحقا عدم انفصام للشدفة القاصية. (g) فقد (X4 28) تبيع كسر في زوج الكروماتيد.



(الشكل 16-14): تحليل الدنا في متلازمة الصبغي X الهش Fragile X Syndrome.

24.16. نقص إنزيم الغلوكوز 6 فسفات ديهيدروجيناز (Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency):

يتم التشخيص بقياس الإنزيم (G6PD) في الكريات الحمراء (قد يُعطى هذا القياس نتيجة سلبية كاذبة بعد نوبة انحلالية)، تختلف المعطيات السريرية، فقد يكون الذكور المصابون بدون أعراض، أوقد يشاهدون بعد الولادة وقد طالت فترة اليرقان، وقد يراجعون بعارضة انحلالية، أوبأعراض فقر دم انحلالي مزمن. يمكن أن يؤهب لحدوث العارضة الانحلالية بعض الأدوية (مثل البريماكوين والسلفوناميد) أومواد كيميائية (مثل النفتالين، ودواء العثة)، وأحياناً عن طريق أكل الفول (Fava beans) (الفوال)، وأخيراً عن طريق بعض العداوى. عادة ما تكون النساء الحاملات للمرض دون أعراض، ولكن ربما طالت فترة اليرقان الولادي (Prolonged neonatal jaundice)، أوتحدث عارضات انحلالية إذا تعرضن لبعض العوامل البيئية.

تورث كخلة متنحية مرتبطة بالصبغي X، بسبب مجموعة من الطفرات في جين (*G6PD*). لقد وصف أكثر من 300 نوع مختلف، معظمها يُظهر مستويات سوية لفعالية الإنزيم وأغلبها بدون أعراض. كل القوقازيين تقريبا، وأغلبية السود لديهم رحلان كهربائي سوي للنمط B من (G6PD)، أما النمط A فله شكل مختلف للرحلان، بالرغم من مستوى فعالية للإنزيم قريب من الطبيعي. يوجد هذا النوع في 20 ٪ من السود، وينتج عن طفرة نقطية (N126D) يوجد النوع (A–) في 10 –25 ٪ من السود، وله 15 ٪ فقط من فعالية الإنزيم (G6PD)، وهو بسبب طفرة نقطية ثانية (V68M) على خلفية A. (بمعنى وجود نقطتين طافرتين في {A} بالمقارنة مع الطبيعي). تميل الملامح السريرية للعائلات التي لديها (A–) إلى أن تكون أخف عن طريق الطفرات التي تكون شائعة في الصينيين، مثلا (G163S)، والسكان حول البحر الأبيض المتوسط مثلا (S188F). نسبة تردد نقص (G6PD) صفر إلى 5 ٪ في الصينيين، وصفر – 20 ٪ عند الإيطاليين، وصفر – 32 ٪ عند اليونانيين، و5–65%عند السعوديين ، يمكن الكشف عن الإناث الحاملات للخلة عن طريق قياس (G6PD) في الخلايا الحمراء، أو تحليل الدنا.

25.16. اعتلال الأمعاء للغلوتين (الداء الزلاقي: Gluten Enteropathy):

تصيب متلازمة سوء الامتصاص بسبب عدم تحمل الغلوتين، واحد من كل 2000 فرد في أوربا. تقدر خطورة الرجعة عند الأشقاء والنسل (1 لكل 33 (من المرضى العرضين بالرغم من وجود واحد لكل عشرة ممن لديهم خزعة صائمية شاذة. تكون الخطورة للمرض العرضي أقل من واحد لكل 100 من الأقارب من الدرجة الثانية.

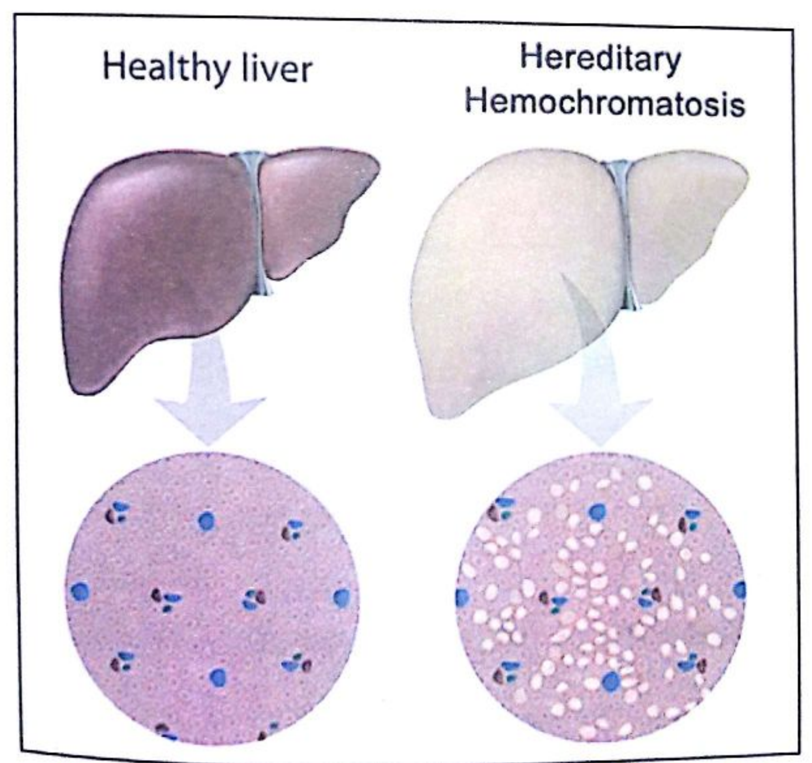
إن العامل البيئي المؤهب هوبروتين الألفا غلايادين (Alpha gliadin)، وهوأحد مكونات بروتين الجلوتين في القمح، والأفراد الذين لديهم استعداد يظهرون ترافقاً مع HLA DR3 وDR7. لقد بينت الدراسات على

الدنا، ترافقا مع DPB4.2 و DPB3 ذا أهمية خاصة. يعتقد أن بعض القطع متعددة الأشكال عند جزيء DP في المواضع 57،56،69 لها أهمية كبيرة في إضفاء الاستعداد لهذه الحالة.

26.16. داء الصباغ الدموي (Hemochromatosis):

بالنسبة لمتماثلي الألائل، يوجد ارتفاع مستوى الحديد في المصل، وزيادة إشباع الترانسفرين، وكذلك الفريتين في المصل، كما توجد زيادة للحديد في شرائح الخزعة الكبدية. أما بالنسبة لمتغايري الألائل، فكل شيء طبيعي عدا مستوى الفريتين في المصل إذ يزداد 3-10 أضعاف **(الشكل 16-15)**.

إذا لم تعالج هذه الحالات، فتشتمل المضاعفات: الداء السكري، وتشمع الكبد، واعتلال العضلة القلبية، واعتلال المفاصل. الفصادة الدموية المتكررة تحسن الانذار. تورث كخلة متنحية جسدية، وموضع الجين (HFE) في الصبغي (p216) نسبة التواتر واحد لكل 400 من القوقازيين، والحملة (1 في كل 10). يمكن الكشف عن الحامل للخلة في العائلة المصابة باستعمال مشاركة التحاليل البيوكيميائية وتحاليل الدنا.



(الشكل 16-15): داء الصباغ الدموي Hemochromatosis.

27.16. داء الناعور A (Hemophilia A):

يشخص بحدوث نزوف راجعة بعد العمليات، وأحياناً تحدث النزوف بشكل تلقائي في الأنسجة الرخوة والمفاصل. يكون العامل 8 أقل من 30 ٪ من الطبيعي، (وإذا كان أقل من 1 ٪ يكون المرض شديداً، من 1- 5٪ يكون متوسط الشدة، ويكون خفيفاً إذا كان 5-30٪، يكون معدل البقيا في الحدود السوية مع المعالجة بإعطاء العامل الثامن وريدياً.

تورث كخلة متنحية مرتبطة بالصبغي X ناتجة عن عدد مختلف من الطفرات في جين العامل الثامن (F8C). إحدى هذه الطفرات الشائعة هي الانقلاب أثناء إعادة الترتيب (Inversion rearrangement)، وتمثل نصف الحالات المرضية الشديدة (ونحو 20 ٪ من جميع طفرات حالات الناعور A). بعض الطفرات الأخرى المترافقة تصاحب المرض الشديد، أما الطفرات خاطئة التعبير (Missense) فتترافق مع المرض الخفيف إلى المتوسط. يمكن الكشف عن حاملات الخلة عن طريق المشاركة بين التحاليل الدموية وتحاليل الدنا. يمكن أيضاً إجراء التشخيص قبل الولادي عن طريق تحليل الدنا من عينة من الزغابات المشيمائية (أو عن طريق التحاليل الدموية لعينة من دم الجنين). يصيب مرض الناعور A واحد لكل خمسة آلاف ذكر، ويمثل 85% من جميع مرضى الناعور.

28.16. داء الناعور B (Hemophilia B):

لا يمكن التمييز بينها وبين الناعور A من الناحية السريرية. ولكن في الناعور B يكون هناك نقص في العامل IX (التاسع) لأقل من 30 ٪. بعد تطبيق المعالجة بإعطاء العامل التاسع وريدياً، يكون معدل البقيا في الحدود السوية.

تورث كخلة متنحية مرتبطة بالصبغي X، ناتجة عن مجموعة منوعة من الطفرات في جين العامل التاسع (F9). الطفرات المترافقة مع فقد وظيفي، تصاحب المرض الشديد، في حين أن الطفرات خاطئة التعبير (Missense) تترافق مع المرض الخفيف إلى المتوسط. يمكن الكشف عن حملة الخلة عن طريق مشاركة بين التحاليل الدموية وتحاليل الدنا. يمكن إجراء التشخيص قبل الولادي بوساطة تحاليل الدنا من عينة مأخوذة من الزغابات المشيمائية (أوعن طريق التحاليل الدموية المأخوذة من دم الجنين). يصيب الناعور B الذكور بنسبة واحد لكل 30000.

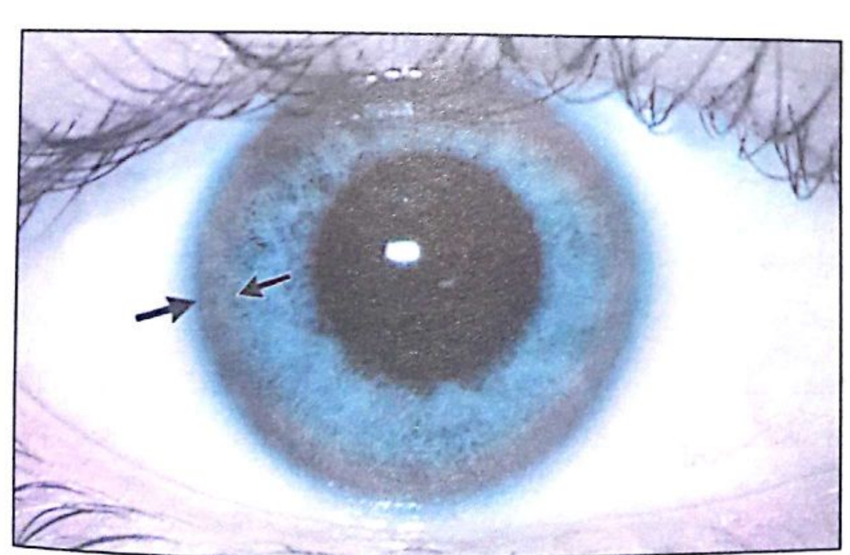
29.16. التنكس العدسي – الكبدي (داء ويلسون)

Hepatolenticular Degeneration (Wilson's Disease):

يكون البدء في النوع الشبابي وما بعد سن الشباب (نادراً ما يصادف بعد سن 30 سنة)، عبارة عن آفة مترقية في الكبد، واضطراب في وظائف النوى القاعدية، وتغيّرات سيكولوجية وسلوكية. تظهر حلقات كايزر – فليشر، وهي تصبغات بنّية خضراء متوضعة على محيط القزحية (بعد سن 7 سنوات) (الشكل 16-16). في هذه المتلازمة، يوجد عيب في استقلاب النحاس، فيقل مستوى السيريولوبلازمين في المصل، ويزداد النحاس في الخلايا الكبدية، كما يزداد طرح النحاس في البول حينما يُعالج المصاب بالبنيسلامين – د (D–Penicillamine).

يحدث في الحالات غير المعالجة التهاب كبد فعال مزمن، وبعض الاضطرابات العصبية، ولكن مع العلاج يكون معدل البقيا طبيعياً.

يورث كخلة متنحية جسدية، ويكون الموضع مجموعة متنوعة من الطفرات في عديد الببتيدات بيتا الناقلة للنحاس (WIND). يمكن الكشف عن الحامل في داخل العائلة وكذلك التشخيص قبل الولادي عن طريق تحاليل الدنا. نسبية التردد لمتماثلي الألائل هي واحد لكل 33 ألفاً (نسبة حمل الخلة 1 إلى 90).



(الشكل 16-16): حلقة كايزر–فليشر (Kayser–Fleischer Ring) في داء التنكس العدسي–الكبدي.

30.16. فرط ضغط الدم (High Blood Pressure):

إن توزع ضغط الدم الانقباضي والانبساطي في عموم السكان يتبع توزعاً طبيعياً، ولكن اصطلاحياً، يعتبر الكاهلون الشباب الذين يبدون ضغطاً مستمراً فوق 90-140، أن لديهم فرط ضغط الدم.

يميل ضغط الدم، وسيما الانقباضي، إلى الارتفاع مع تقدم العمر، ومن ثم فالحدود العليا للقياسات الطبيعية تعتمد على العمر. في حالات الحدود العليا الطبيعية المعيارية للضغط يكون 10% على الأقل من السكان لديهم فرط ضغط دم شرياني، أو سيكون لديهم ذلك، ويعتبر خير مؤشر للتكهن بذلك هو النسبة المئوية الحالية (Centile present) لضغط الدم عند الفرد بالمقارنة مع النسبة المئوية (Centile) لضغط الدم الوالدي.

تشير الدراسات على العائلات وفي التوائم أن الجينات والعوامل البيئية سوياً تتشارك في تعيين ضغط الدم، ولكن طبيعة وآلية عملهما والتفاعل فيما بينهما ما زال مجهولاً في الوقت الحاضر. قد تكون الجينات مهمة أيضاً من ناحية اختيار نوع المعالجة بمضادات فرط ضغط الدم.

على سبيل المثال، يترافق ارتفاع الضغط مع استجابة أحسن بحاصرات بيتا في العرق الأسود عن الأبيض. إذا كان الوالد مصاباً بفرط ضغط الدم الشرياني، فإن خطورة الوقوع لدى النسل تكون 30%، وإذا كان الوالدان مصابين، فتكون الخطورة 40% عند النسل.

31.16. فرط الحرارة التخديرية (فرط الحرارة الخبيث)
:Hyperthermia of Anesthesia (Malignant Hyperpyrexia)

لا توجد أعراض لدى المصاب إلا حين التعرض إلى السسكسنيل كولين أو الهالوثان أثناء التخدير العام. يؤدي ذلك إلى صمل (Rigidity) العضلات، وارتفاع مترق في درجة الحرارة، مع ارتفاع شديد في مستوى الكرياتين كيناز في المصل. تكون نسبة الوفاة نحو 60 ٪ في العارضة (Episode).

تورث كخلة سائدة جسدية مع وجود تغاير جيني (Genetic heterogeneity). بعض العائلات لديها طفرات في مستقبلات الريانودين (Rey amodine RYR1). يمكن تقصي من لديهم خطورة من أعضاء العائلة، بخزعة من العضلة المستقيمة البطنية (Rectus abdominis)، وكذلك تعريض العضلة للمواد المحسسة مثل الهالوثان أوالكافيين. وأخيراً بوساطة زيادة الكالسيوم المؤين داخل السيتوبلازم في وحيدات النوى في الدم المحيطي، بعد تعرضها للهالوثان. أو بتحليل الدنا إذا عرفت الإمراضية الجزيئية. نسبة التردد واحد إلى 15-150 ألف.

32.16. الداء المعوي الالتهابي (Inflammatory Bowel Disease):

لقد تم التعرف على اثنين من تحت الأنماط الشائعة لداء الأمعاء الالتهابي غير الخمجي، أحدهما التهاب القولون التقرحي (الشيوع 1 لكل 1500)، والثاني داء كرون (الشيوع 1 لكل 5000). أوحت الدراسات العائلية وعلى التوائم، وراثة متعددة العوامل، وتزداد خطورة الرجعة في كلا النوعين، ومن ثم تزداد درجة الخطورة نحو 13 ضعفاً (30 ضعفاً بالنسبة للأشقاء) عند قريب من الدرجة الأولى لمريض بداء كرون. ونحو 10-8 أضعاف بالنسبة لالتهاب القولون التقرحي. وبشكل مماثل، تزداد الخطورة بالنسبة للأقرباء من الدرجة الأولى لمريض التهاب القولون التقرحي 15 ضعفاً، 3.5 ضعفاً بالنسبة لداء كرون.

33.16. اعتلال العصب البصري الولادي لـ (ليبر)

(Leber Hereditary Optic Neuropathy: LHON):

يحدث فقد الرؤية الحاد أو تحت الحاد عند أي سن، ولكن الأكثر شيوعاً في العقد الثاني أو الثالث. أمكن إيضاح بعض الطفرات النوعية في دنا المتقدرات. يكون فقد الرؤية المركزية عادة مترقياً وفي الطرفين. قد يوجد أيضاً عيب في التوصيل الكهربائي القلبي.

يظهر هذا النوع من LHON وراثة عن طريق المتقدرات، ويكون بسبب طفرات في مكونات الجين (المركب 1) (Complex 1) تحدث الطفرة في 50% من المرضى عند النقطة (G to A) في المكان 11778، وموجودة في ND4 (طفرة والاس) (Walace mutation) في حين يوجد 20 ٪ من المرضى حيث الطفرة النقطية (G to A موجودة في المكان 3460 في الموضع ND2. يكون المرضى عادة متماثلي الهيولى (Homoplasmic) بالنسبة لهذه الطفرات، وليس كل من لديهم تلك الطفرات لديهم أعراض، مما قد يشير إلى دور لعوامل بيئية غير معروفة حتى الآن.

34.16. الحثل العضلي المرتبط بالصبغي X (X-Linked Muscular Dystrophy):

يوجد نمطان للمرض:

1-الحثل العضلي لدوشين Duchenne Muscular Dystrophy; DMD:

يكون بدء المرض باكراً في الطفولة (90% أبكر من 5 سنوات)، ويتظاهر بضعف عضلي دان مترق، وعادة ما يتأخر مشي الطفل، ونادرا ما يستطيع الجري بشكل طبيعي. توجد ضخامة كاذبة للربلة (Calf).

يحدث ارتفاع شديد لإنزيم الكرياتين كيناز في المصل، ويكون تخطيط كهربائية العضلات شاذاً، ويظهر التشريح المرضي لخزعة من العضلات شكلاً مميزاً، مع غياب الدستروفين (Dystrophin).

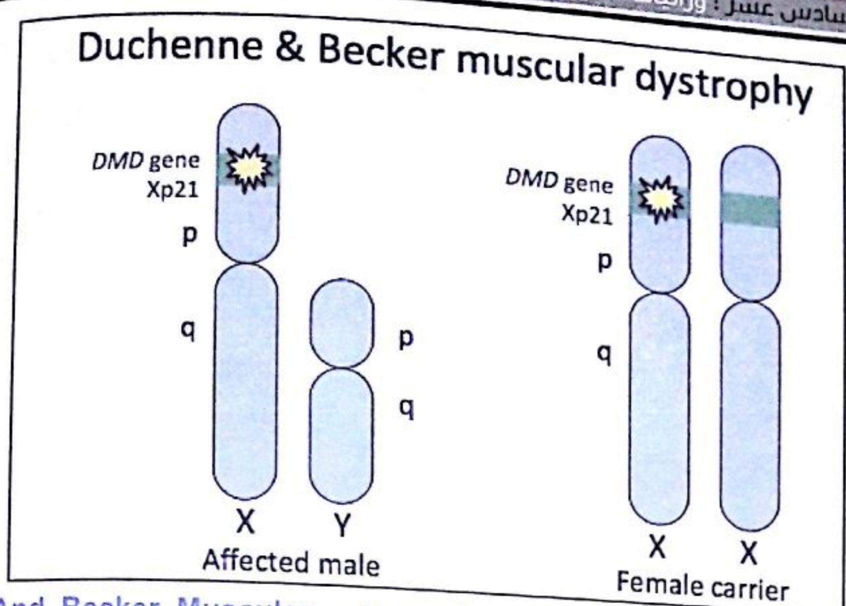
2- الحثل العضلي لبيكر (Becker Muscular Dystrophy; BMD):

يحدث بدء الضعف العضلي المترقي متأخراً في مرحلة الطفولة. ويتميز بضخامة كاذبة في الربلة، وارتفاع شديد في مستوى إنزيم الكرياتين كيناز في المصل، وشذوذ في تخطيط كهربائية العضلات، وكذلك في الشكل التشريحي للخزعة العضلية ونقص مستويات الديستروفين (بنسبة 3-10٪).

يوجد في نمط دوشين إعاقة عقلية 25٪، ويصبح رهين المقعد في متوسط مرحلة الطفولة (95٪ عند سن 12 سنة)، وقد تحدث الوفاة عند سن 20 سنة. أما بالنسبة لنمط بيكر فيكون رهين المقعد في عمر 25 سنة. وقد يكون معدل البقيا سوياً.

كلا النمطين عن الحثل العضلي يورث كخلة متنحية مرتبطة بالصبغي -X، وكلاهما ينتج عن طفرات في جين الديستروفين (DMD). إن أكثرها شيوعاً 65 ٪ هي طفرات جزئية مختلفة الحجم، يتبع ذلك مجموعة متنوعة من الطفرات النقطية (الشكل 16-17). يترافق الحثل العضلي لدوشين مع طفرات تفهة Nullmutations، ناتجة عن انزياح الإطار (Frameshift) (بسبب طفرات خارج الإطار)، أو طفرات نقطية لاغية (Nonsense)، تمنع إنتاج الديستروفين، في حين أن نمط بيكر (BMD). يُنتج الديستروفين ولكن بكميات منخفضة أوله وظيفة شاذة.

يمكن الكشف عن الحملة بمشاركة التحاليل الكيميائية وتحاليل الدنا. يقاس الكرياتين كيناز (يؤخذ متوسط ثلاثة قياسات متفرقة) ويمكن أن يصاحب ذلك معلومات عن الخطورة من شجرة النسب، وكذلك عن معطيات من تحاليل الدنا. يمكن إجراء التشخيص قبل الولادي من تحاليل الدنا لعينات من الزغابات المشيمائية. إذا لم يكن هناك قصة عائلية، فسنجد أن ثلث أمهات الذكور المصابين يكن حاملات، ولديهن خطورة عالية من رجعة ولادة ذكور مصابين، وكذلك النساء القريبات لهن. يكون تردد هذه الحالات بنسبة 1 لكل 3000 ذكر مولود من (DMD)، وواحد لكل 20 ألف ذكر مولود في حالات (BMD).



(الشكل 16-17): نمطي توريث الحثل العضلي دوشين وبيكر Duchenne And Becker Muscular Dystrophy.

35.16. الحثل العضلي التوتري (Myotonic Dystrophy):

يحدث ضعف عضلي مترق في سن مبكرة للكاهل، وخاصة عضلات الوجه، والعضلة القصية الخشائية (Stetthomastaid)، وعضلات الطرفين السفليين. توجد صعوبة في إرخاء الكف المنقبض، بسبب التوتر (التشنج) العضلي (Myotonia)، وهذه الظاهرة تكون واضحة عند الكشف السريري، أو إجراء التخطيط الكهربائي للعضلات.

يحدث ساد وخاصة في الجزء الخلفي من العدسة 85٪، صلع جبهي، وضمور في الخصية عند الذكور، يوجد أيضاً اعتلال شبكية صباغي (Pigmentary retinopathy)، عيوب فى التوصيل الكهربائي للقلب، وأخيراً عجز شديد، غالبا ما يرى بعد 15-20 سنة من بدء المرض. قد يشكل التخدير العام خطورة على المريض، ومن الواجب إنذار طبيب التخدير بالحالة قبل التخدير.

يورث كخلة سائدة جسدية ناتجة من طفرة طولية غير مستقرة، بسبب تكرر الثلاثية القاعدية (CTG)، عند النهاية (UTR3) لجين الحثل العضلي التوتري (*DM*). يوجد لدى الأشخاص الطبيعيين اختلافات صغيرة وثابتة في أطوال هذه المنطقة. (5- 37 تكرارا)، في حين يكون اختلاف الأطوال في الحثل العضلي التوتري ممتداً ليصل إلى (50- 2000 تكراراً)، وكلما كان طول التكرار أكبر كان غير مستقر بشكل أشد. هناك بشكل عام (ولكن ليس مطلقاً) علاقة طردية بين طول التكرارات وشدة المظاهر السريرية. (تكون خفيفة مع تكرار 50-99)، والشكل الكلاسيكي (100-1000 تكرار)، وأخير الشكل الولادي (1000-2000 تكرار). الحالات التي يكون تضخيم التكرار صغيرا، قد لا تظهر أي أعراض، وقد يكون تخطيط العضلات الكهربائي سليماً، وكذلك فحص الشبكية بواسطة المصباح الشقي (Slitlamp). ولكن قد يحدث تضخيم أكبر للتكرارات في الحالات المصابة وتظهر الأعراض الأكثر شدة

في النسل. على عكس ذلك قد تتناقص الطفرة الطولية عند انتقالها للنسل، وهذا أكثر شيوعاً إذا كان الانتقال من الأب 10٪، وأقل شيوعاً إذا كان الانتقال من الأم 3٪.

بالنسبة للأنثى المصابة، يكون 50٪ من أولادها غير مصابين، و29 مصابين في مرحلة متأخرة من العمر، و12٪ يموتون عند الولادة، وأخيراً 9٪ لديهم نقص توتر شديد وإعاقة عقلية منذ الولادة. أما بالنسبة للذكر المصاب فيكون نصف نسله مصاب، والنصف الآخر غير مصاب، ولا تتظاهر أي حالات عند الولادة. يمكن الكشف عن الحملة قبل الأعراض بتحاليل الدنا. أما التشخيص قبل الولادي فيتم بتحاليل الدنا. تواتر هذه الحالات واحد لكل 7500.

36.16. الاكتئاب الهوسي (الاضطراب الفاعل مزدوج القطب) :Manic Depression (Bipolar Affective Disorder)

يصيب الاكتئاب الدوري الشديد و/أو الهوسي، واحداً لكل مئة من السكان. الوراثة متعددة العوامل واضحة في التوائم أحادية الزيجوت، بتواؤم مقداره 70% بالمقارنة مع 15% في التوائم ثنائية الزيجوت، ويشبه ذلك 15% في الأقارب من الدرجة الأولى. تتضح الوراثة المتغايرة في هذه الحالات، ولكن لم يحدث اتفاق معين حتى الآن حول هذا الموضوع من دراسات الارتباط في العائلات المصابة.

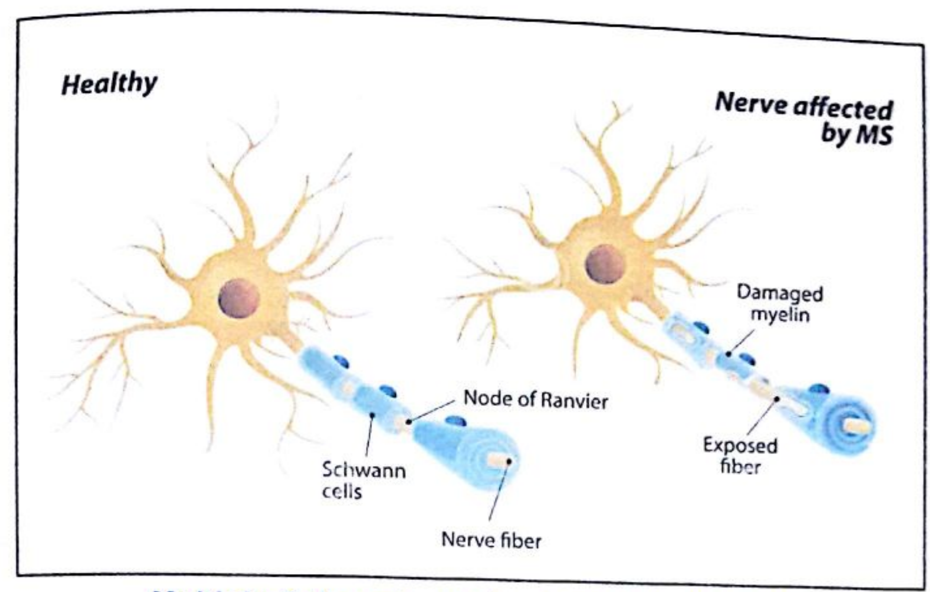
37.16. داء العصبون الحركي (Motor Neuron Disease):

يصيب داء العصبون الحركي واحداً لكل 20.000 من السكان، ويبدو أن 5-10% من الحالات (التي تميل أن يكون البدء فيها مبكراً) تكون الوراثة فيها على شكل خلة سائدة جسدية. بالنسبة لداء العصبون الحركي العائلي. فإن 15-20% من الحالات تسببها طفرات في إنزيم فوق أكسيد الدسميوتاز 1 - 1 Dismutase Superoxid، وفي هذه العائلات يقترح إجراء الاختبارات قبل ظهور الأعراض.

38.16. التصلب المتعدد (Multiple Sclerosis):

يظهر التصلب المتعدد زيادة التواؤم في التوائم المثلية (التواؤم في التوائم أحادية الزيجوت 25-30% في مقابل 2-5% في التوائم ثنائية الزيجوت)، وزيادة الخطورة لدى الأقارب من الدرجة الأولى 1-2%، وهذا يدعم الوراثة متعددة العوامل. تظهر تحاليل ثنائي الأشقاء، انحرافاً في زمر التوافق النسيجي الكبرى (MHC)، حيث يشترك في اثنين من النمط الفرداني (Haplotypes) نحو 40% من المصابين، و47% لديهم نمط فرداني واحد، ونحو 13% بدون نمط فرداني مشترك (بالمقارنة مع شيوع متوقع 25% و50% و25%). تظهر تحاليل الترافق خطورة بنسبة مقدارها 36% بالنسبة DQB IB. طبيعة التأثير

البيئي غير واضحة ومن المفترض أنها مسؤولة عن زيادة الشيوع مع زيادة الارتفاع. إذا أصيب قريبان من الدرجة الأولى ازدادت خطورة الرجعة إلى 5% (**الشكل 16-18**).



(الشكل 16-18): التصلب المتعدد Multiple Sclerosis.

39.16. التحصي الكلوي (المرتبط بالصبغي-X) X-Linked Nephrolithiasis:

يشخص بوجود حصيات بولية، ارتفاع طرح الكالسيوم في البول، نقص الفسفات في المصل. ويختلف من حالة لأخرى. تورث هذه الحالات كخلة متنحية للصبغي X، وتسببها مجموعة مختلفة من الطفرات في سبيل الكلور البولي (Renal chloride channel).

40.16. التغفيق (النوم الانتيابي :Narcolepsy):

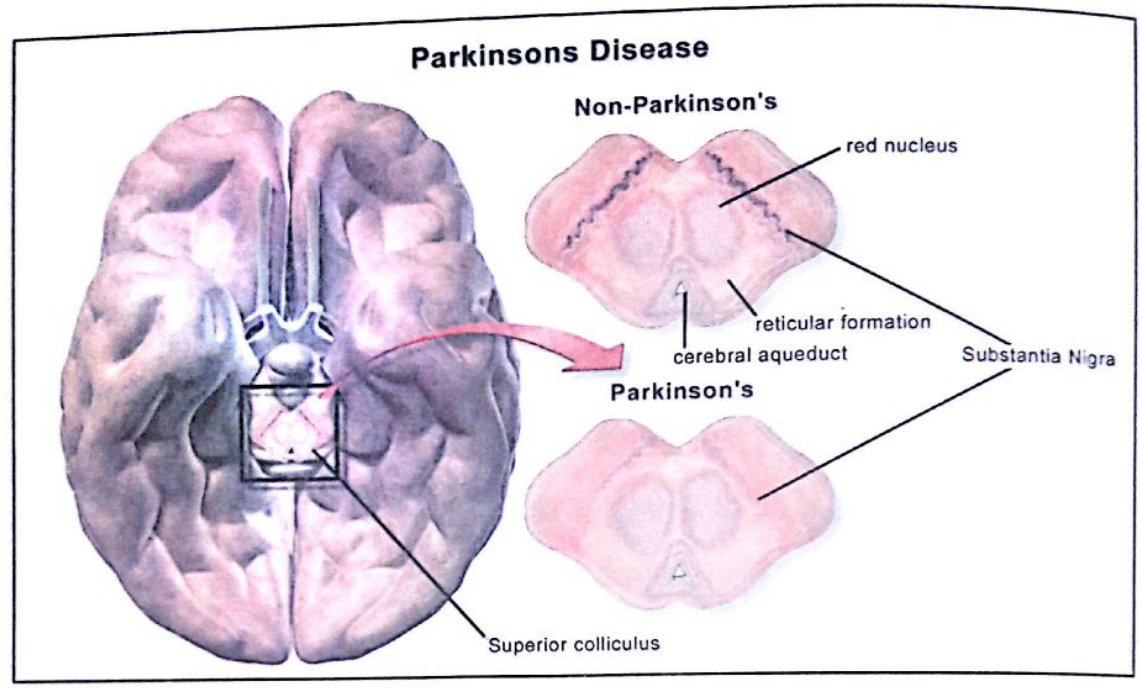
يصيب التغفيق واحداً من كل 2000 فرد، وخطورة إصابة الأقارب من الدرجة الأولى تتراوح بين 10-50% من الواضح وجود ترافق شديد مع الزمرة النسيجية (HLA DR2) إذ توجد في 90-95% من المصابين (بالمقارنة مع 20% من عموم السكان- الخطورة النسبية 250-350%).

41.16. داء باركنسون (Parkinson's Disease):

إن الآفة المميزة لداء باركنسون هي استنزاف (Depletion) عصبونات الدوبامين في المادة السوداء في الدماغ. تتناقص هذه الخلايا في الأفراد الأسوياء مع التقدم في العمر، وتظهر الأعراض السريرية إذا وصل هذا النقص إلى 30% من المستوى الطبيعي. يصل انتشار داء باركنسون إلى واحد في المئة حين الوصول إلى 50 سنة من العمر، ويرتفع إلى 2-3% حين الوصول إلى 85 سنة من العمر. بين هؤلاء

المرضى يوجد زيادة ممن يستقلبون الدبريسكون (Deprisquine) ببطء مما يوحي بالاستعداد الفردي نحواستقلاب السموم البيئية (**الشكل 16-19**).

بالنسبة للحالة الفردانية، ربما تزداد الخطورة قليلاً بالنسبة للأقارب، أو قد تتأثر عن الخطورة في عموم السكان، ولكن إذا أصيب اثنان من الأقرباء من الدرجة الأولى أو في حال كان بدء المرض مبكراً، تكون نسبة الخطورة 30% بالنسبة للأقرباء من الدرجة الأولى عند وصولهم سن 75 سنة.



(الشكل 16-19): داء باركنسون **Parkinson's disease**.

42.16. بيلة الفينيل كيتون (Phenylketonuria):

يتم التشخيص بارتفاع في نسبة الفينيل ألانين في الدم والبول. يكون التطور سوياً وكذلك معدل البقيا، إذا بقي الطفل على غذاء منخفض المحتوى من الفينيل ألانين مع إضافة التيروزين، لكن تحدث الإعاقة العقلية إذا لم يطبق هذا العلاج. هناك خطورة لحدوث الإعاقة العقلية، وكذلك إتيان نسل مشوه للإناث المعالجات، إلا إذا طبق هذا العلاج عليهن مرة أخرى قبل الحمل، حتى يحافظ على مستوى الفينيل ألانين في دم الحامل في مستوى 120- 480 ميلي مول/ليتر.

تورث كخلة متنحية جسدية بسبب مجموعة متنوعة من الطفرات في جين الفينيل ألانين هيدروكسيلاز (PAH) تظهر نماذج الطفرات السائدة اختلافات عرقية (مثلا R408W تمثل ثلثي الطفرات في أوربا الشرقية، إذا ما قورنت بـ 24٪ في إسكتلندا، وتمثل الطفرة التضفيرية Splicing mutations في الإنترون 10. نحو40٪ من الطفرات في المجتمع التركي. يمكن الكشف عن الحملة في العائلات المصابة وكذلك التشخيص قبل الولادة بتحليل الدنا. تسمية التواتر واحد إلى 10000 في أوروبا (ما عدا

إيرلندا إذ تكون واحد لكل 4000. وتركيا واحد لكل 3000). هذه الحالة نادرة في الكاريبيين الأفريقيين، والإشكناز، والهنود.

43.16. مقدمة الإرتعاج/ الإرتعاج (فرط ضغط الدم المحرض بالحمل) Pre-Eclampsia/Eclampsia (Pregnancy-Induced Hypertension):

تحدث مقدمة الارتعاج في 2-3% من حالات الحمل (4-6% من الحمل الأول)، ويكون ضغط الدم الانبساطي أعلى من 90 ملم زئبقياً، مع وجود بيلة بروتينية أكثر من 0.25 غرام/ل، في قياسين متفرقين أو أكثر، بعد الأسبوع 26 من الحمل، في سيدة كان الضغط الشرياني لديها قبل وبعد ذلك في الحدود السوية. دعمت الدراسات العائلية وجود استعداد وراثي، مع زيادة خطورة مقدارها 4-5 أضعاف في الأقارب من الدرجة الأولى.

44.16. الصدفية (Psoriasis):

تصيب الصدفية 1-2% من السكان، وتتصف بارتفاع التواؤم بين توأمي البيضة (70% تواؤم في التوائم أحادية الزيجوت، في مقابل 23% في التوائم ثنائية الزيجوت)، كما توجد زيادة خطورة لدى الأقارب من الدرجة الأولى. في حال وجود أحد الوالدين فقط مصاب تكون الخطورة بالنسبة للطفل 25% (ترتفع نسبة الخطورة إلى 60-75% إذا كان الوالدان مصابين). أما بالنسبة للوالدين الطبيعيين، ولديهم طفل واحد مصاب، فتكون الخطورة بالنسبة للأشقاء 17% لقد أوضحت تحاليل الترافق خطورة نسبية بمقدار 43% بالنسبة لحاملي الزمر DR7 وفي بعض العائلات وُجد ارتباط مع واسمات الصبغي 17 (**الشكل 16-20**).

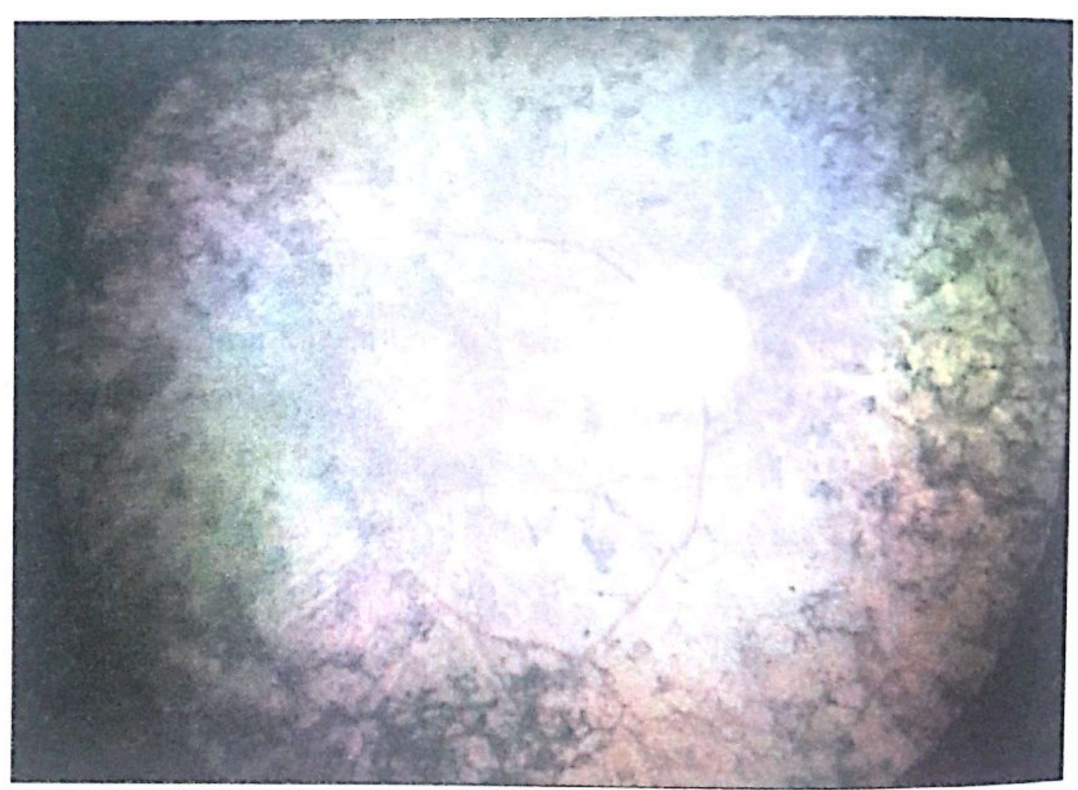


(الشكل 16-20): الصدفية Psoriasis.

45.16. التهاب الشبكية الصباغي (Retinitis Pigmentosa):

يشخص بفقد مترق للرؤية، مع وجود تراكمات صباغية في الشبكية، تشبه الكريات العظمية (Bone corpusle)، تفقد الرؤية الليلية باكراً، ويحدث إبصار نفقي (Tunnel vision)، وفي مرحلة متأخرة تفقد حدة الرؤية المركزية، ويختلف ترقي المرض داخل العائلة، وبين العائلات الأخرى **(الشكل 16-21)**.

تكون الوراثة متغايرة، مع خطة سائدة جسدية (15% بسبب طفرات في جين الرودبسين في بعض العائلات، وفي البريفيرين (Peripherin) في بعضها الآخر)، وتكون الخلة متنحية جسدية (في 70٪)، وأخيراً تكون خلة مرتبطة بالصبغي X (في 10٪)، ويكون التردد في كل هذه الأنواع نحو واحد لكل 3000-5000 يكون التمييز بين هذه الأنماط صعباً من الناحية السريرية وخاصة في غياب أفراد مصابين في نفس العائلة حتى تحدد نمط الوراثة، وفي هذه الحالة تقدر الخطورة التخبرية (طريق الخبرة العملية). على هذا الأساس، تكون الخطورة بالنسبة لطفل أحد الوالدين المصاب، وبدون قصة عائلية، هي واحد لكل ثمانية. أما العائلات التي لديها وراثة متنحية مرتبطة بالصبغي X، فيمكن التعرف على الإناث حاملات الخلة باستخدام الفحوص العينية وكذلك تحاليل الدنا.



(الشكل 16-21): التهاب الشبكية الصباغي Retinitis Pigmentosa.

46.16. التهاب المفاصل الرثياني (Rheumatoid Arthritis):

يصيب التهاب المفاصل الرثياني واحداً بالمئة من السكان، ويظهر زيادة في التوائم في توأمي البيضة (30% في التوائم أحادية الزيجوت، 5% في ثنائية الزيجوت)، وهناك زيادة في نسبة الخطورة 5% بالنسبة للأقارب من الدرجة الأولي.

تظهر تحاليل الترافق خطورة نسبية مقدارها 3-6 مع الزمر DR4، وتظهر سلسلة الدنا لـDRB نماذج خاصة لتسلسل للأحماض الأمينية عند الموقع 67-74 (LLEQKRAA أو LLEQRRAA) يكون هذا الجزء من بروتين DRB ملاصقاً للأخدود الرابط للببتيد، ومن المحتمل أن يأتي في ملامسة مستقبلة الخلية T، وربما يؤثر ذلك على الاستجابة المناعية المشاهدة في تلك الحالات.

47.16. الفصام (Schizophrenia):

يوجد الكثير من تحت الأنماط السريرية للفصام، التي يصل شيوعها في السكان في الأعمار المختلفة إلى نحو0.8% بشكل عام. تظهر في هذه الحالات الوراثة متعددة العوامل، بمعدل توائم كلي في التوائم أحادية الزيجوت مقداره 45%، بالمقارنة مع 12-14% في التوائم ثنائية الزيجوت، ومعدل شيوع في الأقارب من الدرجة الأولى نسبته 10-15%، ولكن 3% فقط في الأقارب من الدرجة الثانية. تكون نسبة الخطورة 40% لدى الطفل إذا كان الوالدان مصابين. وتميل الرجعة إلى الاعتماد داخل العائلة على تحت النمط.

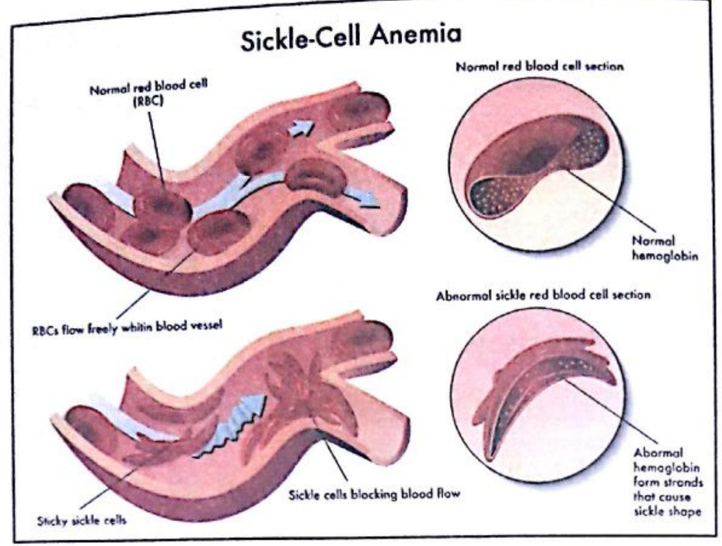
يكون التغاير الوراثي ظاهراً، ولا يوجد إجماع في الرأي حتى الآن حول تحاليل الترابط في العائلات المصابة.

48.16. فقر الدم المنجلي (Sickle Cell Disease):

تبين اللطاخة الدموية مظاهر فقر دم، مع تشوه في الكريات الحمراء، وإذا أجري الرحلان الكهربائي للهيموجلوبين يبين الهيموجلوبين S (HDS) بشكل أساسي مع قليل من HbA2، وقد يستمر وجود (5- 15 %) (HBF ، يحدث فقر دم انحلالي مزمن شديد في الحالات متماثلة الزيجوت. توجد عوارض متكررة من الاحتشاءات، خاصة في الرئة والطحال والعظام. والمصاب أكثر ميلا للعداوى بالمكورات الرئوية، والتهاب العظام بالسلمونيلة. يكون معدل البقيا قصيراً، رغم ما يقدم من دعم ورعاية. تتحسن النظرة كثيراً لهؤلاء المرضى الذين يرثون في نفس الوقت الهيموجلوبين F الباقي.

يورث كخلة متنحية جسدية، بسبب طفرة نقطية في مكان الحمض الأميني، في الوضع 6 من سلسلة البيتاغلوبين (E6V)، التي ينتج عنها استبدال الجلوتاميك بالفالين. يمكن الكشف عن الحملة بوساطة التحاليل الدموية (اختيار التمنجل (Sickledex test)، وبالرحلان الكهربائي للهيموجلوبين). يمكن

التشخيص قبل الولادي في الشهور الثلاثة الأولى عن الحمل بتحليل الدنا (الكشف المباشر عن الطفرة. أو يمكن التشخيص في الشهور الثلاثة الثانية للحمل عن طريق التحاليل الدموية) **(الشكل 16-22)**.



(الشكل 16-22): فقر الدم المنجلي Sickle Cell Disease.

49.16. عجز القراءة النوعي (Specific Reading Disability):

تتميز هذه الحالة بصعوبة في تعلم القراءة رغم التدريس التقليدي، ومعامل ذكاء طبيعي وفرص ملائمة في البيئة الاجتماعية الثقافية. نسبة من خمسة إلى عشرة في المئة من السكان مصابون بزيادة في التوائم أحادي الزيجوت في التوائم، وزيادة نسبة الخطورة في الأقارب من الدرجة الأولى (نسبة الخطورة في الأشقاء 20% إذا الوالدان غير مصابين وتزداد إلى 30-60% إذا كان أحدهما مصاباً).

50.16. الضمور العضلي الشوكي نمط 1 (داء فيردنغ - هوفمان)
:Spinal Muscular Atrophy Type I (Werdnig-Hoffman Disease)

يشخص بحدوث ضعف عضلي مترق بسبب فقد لخلايا القرن الأمامي (Anterior horn cells)، ويحدث نقص أو فقد المنعكسات الوترية العميقة، وتحزّم (Fasciculation)، ويكون مستوى الكرياتين كيناز في المصل طبيعياً، أما تخطيط كهربائية العضلات (EMG) فيظهر إزالة التعصيب، وتُبدي الخزعة العضلية مظاهر الضمور. تحدث الوفاة عادة بحلول السنة الثالثة من العمر.

يورث النمط 1 من الضمور العضلي الشوكي كخلة متنحية جسدية، ويحدث بسبب مجموعة متنوعة من الطفرات (خاصة الأخبان في الجين SMA. يمكن الكشف عن الحملة والتشخيص قبل الولادة في داخل العائلة بوساطة تحليل الدنا. التواتر واحد في كل 10 آلاف ولادة، ويكون تواتر الحمل للخلة واحد لكل خمسين). هذا النمط هوالأكثر شيوعاً في حالات الضمور العضلي الشوكي، ولكن هناك أنواع مختلفة أخرى تكون متأخرة البدء.

51.16. الذئبة الحمامية الجهازية (SLE) Systemic Lupus Erythematosus:

قد تكون الذئبة الحمامية الجهازية مجهولة السبب، أو تحدث بتحريض دوائي، أو تكون ثانوية بسبب وراثي في نقص لمكونات مجموعة المتممة. إن النمط مجهول السبب هوالأكثر شيوعاً ويظهر زيادة في معدل التواؤم في توأم البيضة. في النمط مجهول السبب تكون الخطورة النسبية 5–2 أضعاف حينما تكون مترافقة مع النمط الفرداني النسيجي(HLA A1 B8 DR3). ويعتقد أن هذا يشير إلى عدم توازن الارتباط، مع غياب أليل (C4 null) C4 الذي يؤهب إلى حدوث الذئبة الحمامية الجهازية.

أما النوع المحرض بالأدوية فهو أول الأنماط التي وصفت عن تفاعل بين جينين بشريين وعامل بيئي. تشمل الأدوية التي يمكنها تحريض المرض، الأندونيازيد، والهيدرلازين (Hydralazine)، ومركبات الأستلة البطي Slow acetylators. إن زيادة مستويات هذه المركبات في المصل في هؤلاء الأفراد لها تأثير مثبط مباشر على المتممة C4 والمسؤولة عن تصفية أو التخلص من المركبات المناعية في الدوران. وبالرغم من ذلك، فليس كل من يعانون بطء الأستلة الموضوعين على هذه المعالجات يصابون بالمرض. أما الإشارة الدالة على المكون الوراثي الثاني فقد أتى من ترافق الزمرة النسيجية (HLA DR4) في الأفراد المصابين، مما أوحى أن أليلاً معيناً هو(C4) يكون موضع ارتباط غير متوازن مع DR4. لديه استعداد غير متوقع للتثبيط بهذه الأدوية.

52.16. داء فون ويليبراند (Von Willebrand Disease):

يمكن التشخيص الكمي أو الكيفي (على سبيل المثال، نقص تكدس الصفيحات باستعمال الريستوسيتين (Ristocetin) أو النمط متعدد القسيمات (Multimer Pattern)، كما يوجد عيب في عامل فون ويليبراند (VWF)، قد يكون المرضى لا عرضيين، أو يحدث لديهم نزوف شديدة بعد الرض. تُظهر معظم العائلات وراثة سائدة جسدية، مع مجموعة متغيرة من الطفرات في جين (*VWF*)، أما العائلات التي تُظهر وراثة متنحية جسدية، فعادة ما يكون لديها طفرات خفيفة في (*VWF*)، تؤدي إلى أعراض وخيمة في الأطفال مغايري الألائل المركب (أو متماثلي الألائل). تكون نسبة التواتر في السكان بالنسبة لمغايري الألائل (*VWF*) نحو واحد لكل 1000.

Referances المراجع

Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. (2015) Molecular biology of the cell. Sixth Edition. Garland Science, New York, NJ, USA

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, and Hamosh. (2015) Genetics in medicine. Eighth Edition, Elsevier, Philadelphia, PA, USA.

Lewis R. Human Molecular Genetics. (2015) Concepts and Applications. Eleventh Edition, McGraw-Hill Education, 2 Penn Plaza, New York, NY, USA.

Snustad P and Simmons MJ. (2013) Principle of genetics. Sixth Edition, Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, USA.

Klug WS, Cummings MR, Spencer CA, Palladino MA. (2012) Principles of genetics. Tenth Edition. Pearson Education, Inc, San Francisco, CA, USA.

Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RB (2011). Biology. Ninth Edition. Pearson Education Inc., Sansome St., San Francisco, CA, USA.

Strachan T and Read A. (2011) Human Molecular Genetics. Fourth Edition Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, New York NY, USA.

Passarge E. (2007) Color Atlas of Genetics. Third Edition. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, Germany.

Chen H. (2006) Atlas of Genetic Diagnosis and Counseling. Humana Press Inc, Totowa, New Jersey, USA.

Pasternak JJ. (2005) An Introduction to Human Molecular Genetics. Second Edition, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, USA.


Taken By Rami